

카페인과 일반의약품의 복합처리에 의한 장관계 세포 독성 평가

최현아 · 김미리 · 박경아 · 홍정일*
서울여자대학교 자연과학대학 식품공학과

Evaluation of Cytotoxic Properties of Caffeine Treated with Over-the-counter Drugs in the Intestinal Cells

Hyun A Choi, Mi-Ri Kim, Kyung A Park, and Jungil Hong*

Department of Food Science and Technology, College of Natural Science, Seoul Women's University

Abstract Caffeine is a xanthine alkaloid derivative found in many foods and beverages. Dietary caffeine may interact with commonly-consumed over-the-counter (OTC) drugs in body. In this study, cytotoxic effects on the intestinal cells by combined treatment of caffeine with several OTC drugs, including ibuprofen, aspirin, and acetaminophen. Cytotoxic effect of caffeine was more potent in normal intestinal INT 407 cells than in colon cancer HCT 116 cells. Relative toxicity of caffeine and the OTC drugs was significantly enhanced in INT 407 cells when treated together. Intracellular thiol levels of the cells treated with the OTC drugs increased in the presence of caffeine. When HCT 116 cells were incubated with each OTC drug after or before caffeine treatment, the relative cytotoxicity of the OTC drugs increased. The present study may provide basic information about possible health effects through the interactions between caffeine and OTC drugs in the intestinal cells.

Keywords: caffeine, over-the-counter drug, acetaminophen, aspirin, ibuprofen, intestinal cells

서 론

카페인(1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione or 1,3,7-trimethylxanthine, Fig. 1A)은 커피나 차, 콜라 등과 같은 기호음료와 초콜릿 등의 식품에 함유되어 널리 섭취될 뿐만 아니라 진통제, 해열제 등의 일반의약품에 첨가되거나 각성작용을 위한 용도의 일반의약품 자체로도 판매되고 있다(1). Xanthine 알칼로이드 유도체인 카페인은 blood brain barrier를 쉽게 통과하여 중추신경계를 자극하는 효과가 있다고 널리 알려져 있으며, 이와 관련하여 적당량의 카페인은 신경활동을 활발히 하는 각성 효과가 있으나 과잉으로 섭취하면 신경과민, 흥분 등을 유발하고 위장, 소장, 결장에도 영향을 미친다고 보고되었다(2-4). 카페인은 활성산소종에 의한 지질과산화물 저해함으로써 항산화 효과를 나타내며(5), 암 세포에 세포자연사(apoptosis)를 유도하거나(6), G0/G1 phase arrest를 유도하여(7) 항암 효과를 나타낸다고 보고되었다. 한편, 카페인은 체내에서 phase I 대사효소인 cytochrome P450(CYP)의 작용에 의해 대사된다고 보고되었으며 간과 신장에서 CYP 1A1/1A2의 발현을 증가시킨다고 보고되었다(8,9).

Paracetamol(acetaminophen, AAP), acetylsalicylic acid(aspirin, Asp), ibuprofen(Ibu)과 같은 해열 및 소염진통제들은 일반의약품

으로서 처방전 없이 쉽게 구매하여 복용할 수 있으므로, 약물의 오남용과 이로 인해 파생될 수 있는 부작용 및 유해성 등에 대한 관심이 증가하고 있다(10). AAP는 대사효소인 CYP에 의하여 독성을 가진 중간 생성물로 대사될 수 있는데, 정상적인 상태에서는 이들이 glutathione(GSH)과 결합하여 독성이 없는 물질로 전환되어 배설되나, AAP 중간 생성물이 과도하게 생성되거나 GSH가 부족할 경우 독성이 발현된다고 보고되었다(11,12).

이러한 약물의 흡수, 대사 및 배설의 양상은 같이 섭취한 식품 성분들과의 상호작용을 통하여 크게 변화할 수 있으며, 이에 따른 약효의 변화, 독성의 발현 등 다양한 결과를 초래할 수 있다. 지금까지 카페인과 일반의약품의 상호작용에 대한 연구로서 카페인에 의한 AAP의 진통억제 효과 또는 AAP의 흡수에 미치는 영향 등에 대한 연구가 진행된 바 있다(13,14). 이들 연구에 이용되는 전반적인 카페인의 농도는 시중에서 해열 진통제로서 판매되고 있는 AAP tablet에 들어 있는 카페인 평균함량으로서(10), 식이 음료 중 광범위하게 함유되어있는 카페인 성분을 고려할 때 다양한 농도에 의한 여러 약물과의 빈번한 상호작용이 예상되나 이에 대한 연구는 아직 미비한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 카페인이 AAP를 비롯한 Asp 및 Ibu의 일반의약품들과 같이 섭취되었을 때 일어날 수 있는 상호작용 및 이로 인한 영향을 장관계 세포모델에서 조사하였으며, 정상 세포와 암 세포에서의 독성 및 세포증식에 대한 효과를 비교하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 세포주

실험에 사용된 카페인과 일반의약품 Ibu, Asp은 Sigma-Aldrich chemical Co.(St Louis, MO, USA)에서 구입하였다. AAP는 Fluka

*Corresponding author: Jungil Hong, Department of Food Science and Technology, College of Natural Science, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea
Tel: 82-2-970-5639
Fax: 82-2-970-5977
E-mail: hjil@swu.ac.kr
Received February 9, 2012; revised March 6, 2012; accepted March 6, 2012

chemical Co.(Buchs, Switzerland)에서 구입하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 시약은 Amresco Inc.(Solon, OH, USA)에서 구입하여 사용하였고, 그 외에 사용된 모든 시약은 Sigma-Aldrich chemical Co.에서 구입하였다. 카페인, Ibu, Asp, 그리고 AAP는 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해시키고 1회 분량씩 나누어 -80°C 초저온 냉동고(Ilshin Bio Base, Bucheon, Korea)에서 보관하여 사용하였다. 인간 형질전환 정상 장관계 세포주 INT 407는 고려대학교 김태성 교수 실험실(Korea Univ., Seoul, Korea)에서 분양 받았으며, 인간 대장암 세포주 HCT 116는 American Type Culture Collection(Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. INT 407 세포와 HCT 116 세포는 10% 우태아 혈청(fetal bovine serum, FBS)과 100 unit/mL penicillin, 0.1 mg/mL streptomycin이 포함된 MEM, RPMI 1640 배지에서 각각 배양하였고, INT 407 세포를 위한 MEM 배지에는 추가로 1% non-essential amino acid를 첨가하였다. 모든 세포주는 약 80% confluency에 도달하였을 때 계대배양하였고, 습도 95%, 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

카페인과 일반의약품 성분의 단독 또는 복합 세포 독성 평가

INT 407과 HCT 116 세포는 trypsin-EDTA로 처리하여 단일 세포 현탁액으로 만든 후, 96 well plate에 well당 ~1.5×10⁴의 세포를 분주하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 세포의 confluency가 ~80%에 도달하였을 때, 카페인과 일반의약품 성분 Ibu, Asp, AAP를 serum free 배지에 처리 농도로 희석하여 well당 200 µL씩 단독 또는 복합 처리하였다. 처리 순서에 따른 독성변화를 평가하기 위하여, 일반의약품 성분 또는 카페인을 먼저 단독으로 처리하고 24시간 후 카페인 또는 일반의약품 성분이 포함된 배지로 각각 교체하여 24시간 더 배양하였다. 세포 독성은 MTT assay를 사용하여 분석하였다. MTT 시약은 phosphate buffered saline(PBS)에 5 mg/mL의 농도로 용해시켜 0.2 µm filter로 제균한 후, 4°C에 보관하여 사용하였다. 카페인 및 일반의약품 성분을 일정 시간 처리 후, 기존 serum free 배지는 제거하고 MTT의 최종 농도가 0.5 mg/mL이 되도록 serum free 배지에 희석하여 각 well당 100 µL씩 첨가하였다. 37°C에서 약 1시간 반응시킨 후, 배지는 완전히 제거하고 생성된 보라색 MTT formazan을 DMSO로 용해하여 microplate reader(Triad LT; Dynex Technologies Inc, Chantilly, VA, USA)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 내 thiol성 물질 함량 및 배양액의 항산화 활성 측정

카페인과 일반 의약품의 단독 또는 복합 처리 시 세포 내 GSH를 비롯한 thiol성 물질 함량의 변화는 monobromobimane(mBBr)를 이용하여 측정하였다. INT 407과 HCT 116 세포를 96 well plate에서 위와 동일한 방법으로 배양한 후, 카페인과 일반의약품 성분 Ibu, Asp, AAP를 serum free 배지에 농도를 달리하여 200 µL씩 단독 또는 복합처리 하였다. 2시간 후, 약물과 카페인을 처리한 배지는 제거하고, 40 µM mBBr PBS용액을 well당 100 µL씩 첨가하여 37°C 배양기에서 30분 동안 처리하였다. 이 후, mBBr 용액을 제거하고 PBS를 50 µL씩 첨가하여 washing한 뒤, 다시 PBS를 well당 100 µL씩 넣어 excitation 360 nm와 emission 465 nm의 조건에서 형광값을 측정하였다(SpectraMax M3; Molecular Devices Inc., Sunnyvale, CA, USA). 한편 세포 외액의 항산화 활성은 2시간 동안 세포에 처리한 배양액 100 µL를 취하여 600 µM 2,2-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) 100 µL와 혼합하고 암소에서 30분 보관 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(SpectraMax M3).

결과 분석 및 통계처리

모든 실험결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험군별 유의차 분석은 One-way ANOVA와 Tukey's HSD test를 실시하여 95와 99%의 유의수준에서 검정하였다. IC₅₀값은 카페인 및 각 약물의 단독치리에 따른 농도별 세포의 사멸 결과로부터 직선부위에 대한 선형회귀식을 구하고 50% 사멸을 일으키는 농도를 계산하였다.

결과 및 고찰

카페인 및 약물에 의한 세포 독성

카페인 및 약물에 의한 세포 독성은 이들을 형질전환 인간 정상장관계 INT 407 세포와 인간대장암 HCT 116 세포에 처리한 후 생존세포에 의한 MTT 환원능을 비교하여 평가하였다. INT 407 및 HCT 116 세포에 카페인 농도를 달리하여 24시간 처리한 후 세포생존율을 평가한 결과, INT 407 세포에서 더 강한 세포 독성이 발현되었다(IC₅₀ value, 1.91 vs. 2.45 mM) (Fig. 1B and C).

일반의약품 성분 Ibu, Asp, AAP는 INT 407과 HCT 116 세포에서 농도 의존적으로 세포 독성효과를 나타내었고, 특히 Ibu가 다른 약물에 비하여 강한 세포 독성을 보였는데, 대장암 세포 HCT 116과 정상 세포 INT 407에 각각 1.0과 1.8 mM의 IC₅₀값을 나타내어 암세포에 유의적으로 높은 독성을 발현하였다(Fig. 1C). 반면, AAP의 경우 암 세포주인 HCT 116보다 정상 세포주인 INT 407에서 높은 독성을 나타내었으며, IC₅₀값은 각각 12.5와 7.6 mM로써 정상세포에서 유의적으로 낮았다(Fig. 1C). Asp은 두 종류의 세포에 유사한 효과를 나타내었는데, Asp가 HCT 116 세포에 더 강한 독성을 보인 현상을 제외하고 선행보고와 대체적으로 유사한 경향을 나타내었다(15).

카페인과 약물의 복합치리에 의한 세포 독성 변화

카페인과 약물의 복합치리에 의한 세포 독성 변화는 다양한 식품 중에 함유되어 널리 섭취되는 성분이며, 해열진통제에 첨가되거나 단독의 의약품으로 복용되기도 한다. 성인의 카페인 1일 섭취 기준량은 400 mg으로 알려져 있으며, 실제 국내 대학생들을 대상으로 조사한 1일 카페인 평균 섭취량은 120.49 mg으로 보고된 바 있다(16). 따라서 일반의약품 성분과의 혼용이 빈번하게 일어날 수 있으며, 이에 의한 독성발현 여부를 알아보기 위해 카페인과 약물을 INT 407 및 HCT 116 세포에 복합처리한 후 세포 독성의 변화를 평가하였다. 카페인 0.5, 1 mM을 정상 장관계 세포주인 INT 407에 단독으로 처리하였을 때 각각 17과 29%가 저하된 세포생존율을 나타내었으며, 2 mM Ibu, 10 mM Asp와 AAP를 단독으로 처리한 세포에서는 40-50% 사이의 생존율을 보였다. 카페인과 약물을 동시에 처리하였을 경우 카페인 농도 증가에 따른 약물의 독성 증가도 현저하게 나타났는데(Fig. 2A), 동시 처리에 의한 독성발현 양상이 부가적 또는 상승적 현상인지를 파악하기 위해 각 조건을 기준으로 한 상대독성을 산출하였다. 우선 각 약물의 처리상태를 기준으로 하여 카페인의 상대적 독성을 평가한 결과, 0.5 mM 카페인의 독성에는 유의적 차이가 없었으나, 1 mM 카페인의 독성이 유의적으로 증가하였고 특히, Ibu와 함께 처리 시 독성의 증가가 가장 현저하게 나타났(Fig. 2B). 한편 카페인 처리 시를 기준으로 하여 각 약물독성을 평가한 결과, 1 mM 카페인 존재 하에 공통적으로 약물 독성이 강화되는 현상을 나타내었다(Fig. 2C). 카페인은 대장암 세포주 HCT 116에서 INT 407 세포에 비해 다소 감소된 독성을 나타내었는데 0.5, 1 mM을 처리하

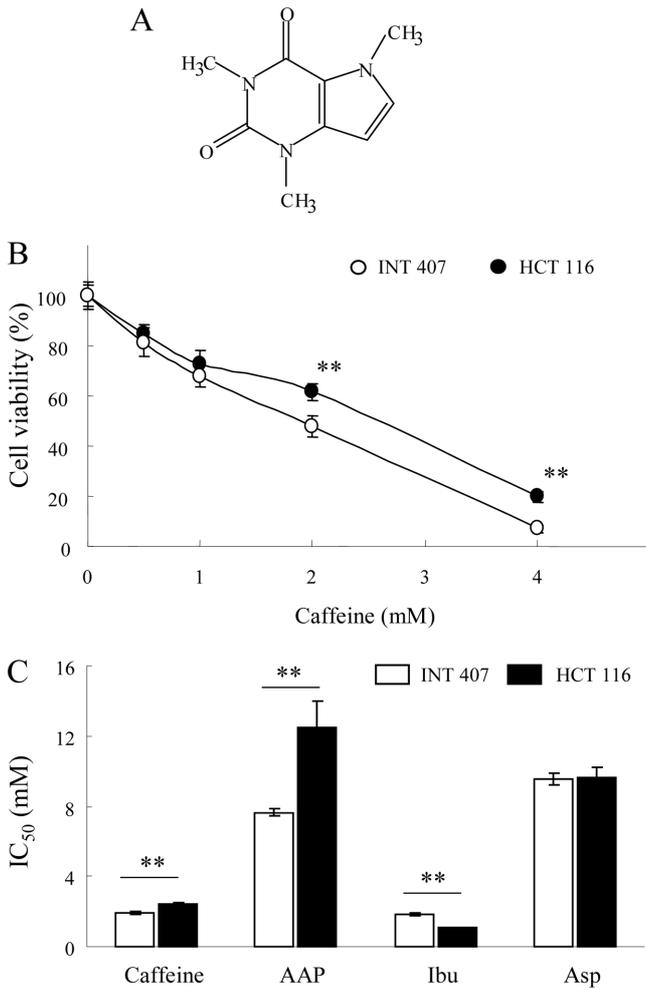


Fig. 1. Structure of caffeine (A) and effects of caffeine and the OTC drugs on viability of the intestinal cells. (B) Concentration-dependent effects of caffeine on viability of INT 407 and HCT 116 cells after 24 h incubation. INT 407 and HCT 116 cells were incubated with different concentrations of caffeine and the OTC drugs. After 24 h, viable cells were analyzed using MTT assay. IC₅₀ values of caffeine and OTC drugs are calculated on each cell line (C). Each value represents the mean±SD (n=8). Significantly different each other according to Student's *t*-test (**, *p*<0.01).

있을 때 각각 15 및 27% 정도의 세포 성장이 감소되었다(Fig. 3A). HCT 116 세포에 2 mM Ibu, 10 mM Asp와 AAP를 처리한 결과, 각각 24, 54 및 87%의 세포생존율을 나타내어 Ibu의 독성이 INT 407에서 보다 강하게 발현된 반면 AAP는 약한 독성을 나타낸 Fig. 1C의 결과와 일치하였다. 각 약물의 처리상태를 기준으로 하여 카페인의 상대독성을 계산한 결과 0.5와 1 mM의 카페인농도에서 일관된 독성의 증가나 감소현상은 나타나지 않았다(Fig. 3B). 한편 카페인 처리 상태에서 각 약물의 상대적 독성을 비교하였을 때 Ibu와 Asp의 독성이 오히려 감소하는 것으로 나타났으며, 카페인과 같이 처리한 AAP의 상대독성은 유의적으로 증가하였다(Fig. 3C). INT 407와 HCT 116 세포의 전체적인 양상을 비교하였을 때, 카페인과 약물의 복합처리에 의한 상대적인 독성강화 현상이 정상 세포주인 INT 407에서 주로 나타났으나, HCT 116 세포에서는 AAP를 제외한 약물들의 독성이 약화되었다. 이러한 현상은 일반적으로 암 세포에 발달된 약물내성 기작 때문으로 사

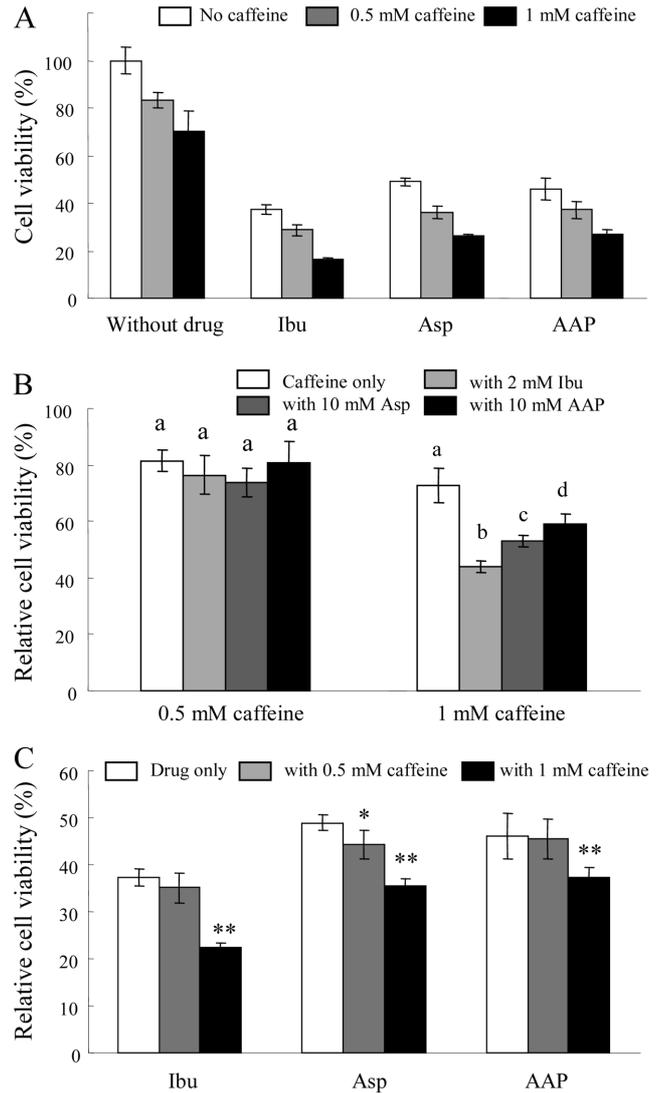


Fig. 2. Effects of caffeine treated with the OTC drugs on viabilities of INT 407 cells. INT 407 cells were incubated with caffeine (0.5 and 1 mM) in the absence or presence of Ibu (2 mM), Asp (10 mM), or AAP (10 mM) for 24 h (A). Effects of caffeine (B) and the OTC drugs (C) on the relative cell viability under conditions of each drug and caffeine treatment, respectively, were also calculated. Each bar represents the mean±SD (n=8). Different letters indicate a significant difference (*p*<0.05) based on one-way ANOVA and the Tukey's HSD test (in B). Significantly different from drug only control according to Student's *t*-test (*, *p*<0.05; **, *p*<0.01) (in C).

료되나(17), 개별 세포의 특성에 의한 현상일 수도 있으며 관련 기작 연구가 더 진행되어야 할 것으로 보인다.

카페인과 약물의 복합처리에 의한 세포 내 thio성 물질 및 배양액의 항산화 활성 변화

AAP를 비롯한 약물의 독성발현에 GSH 수준이 밀접하게 관련되어 있는 것으로 알려졌는데, 특히 AAP과 카페인의 혼용할 경우 카페인이 간세포에서 GSH 수준을 저하시켜 AAP의 독성을 강화시키는 것이 보고되었다(18,19). 따라서 카페인과의 각 약물의 복합처리에 의한 세포 독성과 GSH 수준변화 간의 관계를 파악하기 위해 약물 및 카페인을 단독 또는 복합 처리한 세포 내

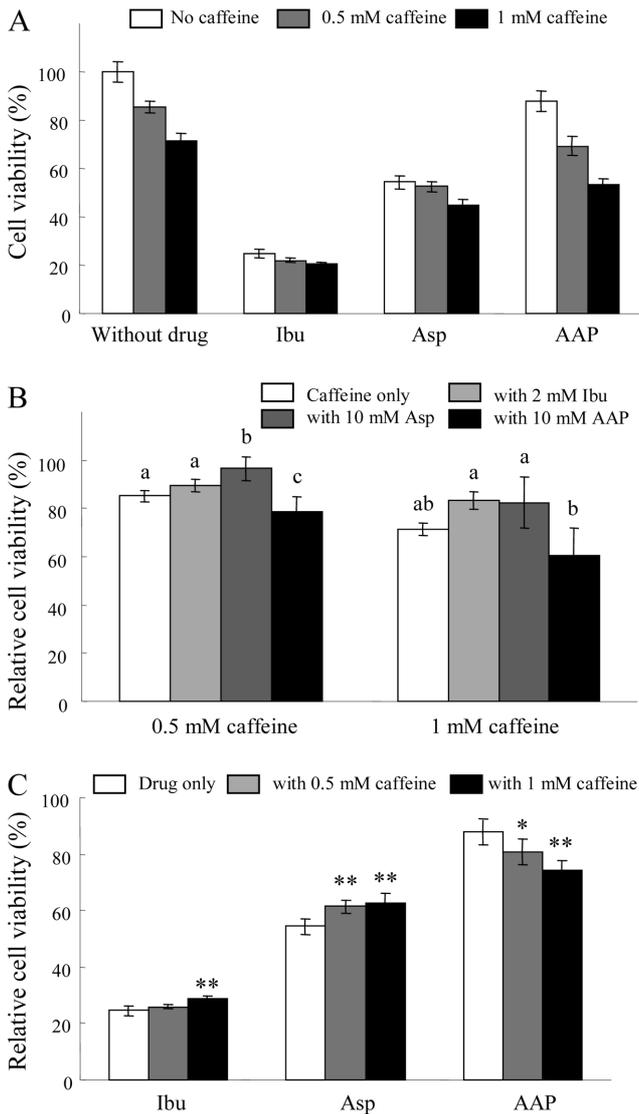


Fig. 3. Effects of caffeine treated with the OTC drugs on viabilities of HCT 116 cells. HCT 116 cells were incubated with caffeine (0.5 and 1 mM) in the absence or presence of Ibu (2 mM), Asp (10 mM), or AAP (10 mM) for 24 h (A). Effects of caffeine (B) and the OTC drugs (C) on the relative cell viability under conditions of each drug and caffeine treatment, respectively, were also calculated. Each bar represents the mean±SD (n=8). Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$) based on one-way ANOVA and the Tukey's HSD test (in B). Significantly different from drug only control according to Student's *t*-test (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$) (in C).

의 GSH 수준을 mBBBr을 이용하여 조사하였다. mBBBr은 thiol group과 특이적으로 반응하여 형광을 나타내는데, 세포 내 대표적 thiol성인 물질 GSH의 검출에 널리 이용되는 물질이다(20). 각 세포에 카페인을 2시간 동안 단독처리한 결과, INT 407 세포에서는 GSH를 비롯한 thiol성 물질의 세포 내 수준에 차이가 없었으며, 1 mM 카페인을 처리한 HCT 116 세포에서 약 12% 정도의 유의적인 감소현상이 나타났다. 약물의 단독처리 시에 INT 407 세포에서는 Ibu와 AAP 처리군에서 유의적인 GSH의 감소현상을 보였으며, HCT 116 세포에서는 2 mM Ibu와 10 mM Asp 및 AAP 존재 시 각각 37, 25 및 13% 정도 GSH 수준이 현저하게 감소하였다(Fig. 4A and B). 흥미롭게도 약물과 카페인을 동시 처

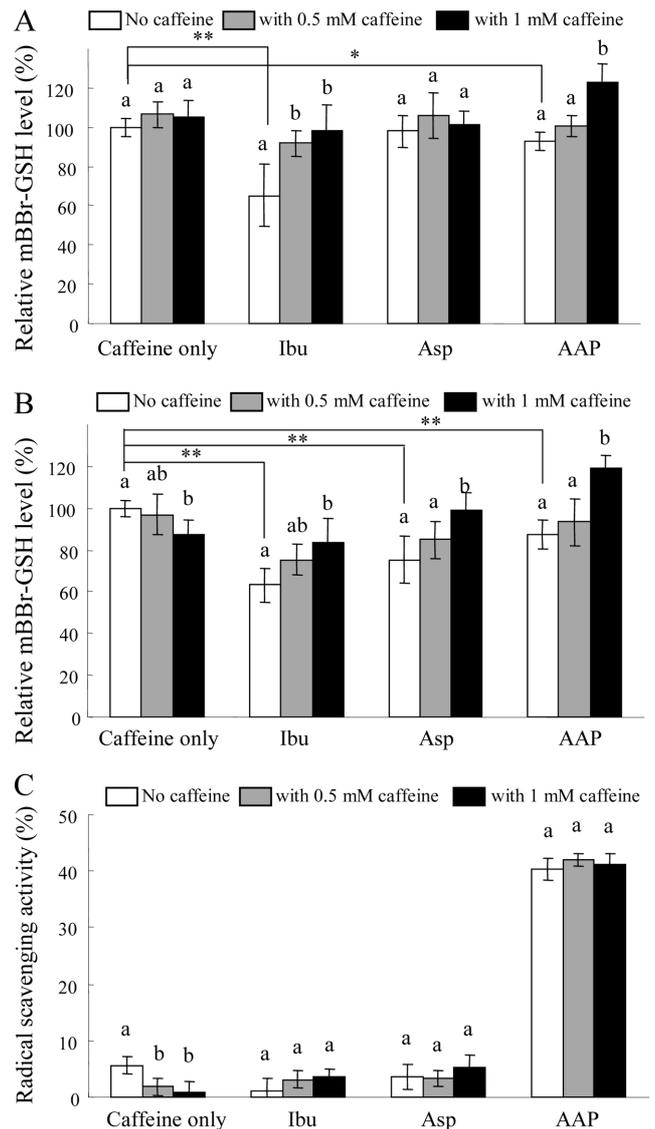


Fig. 4. Changes in intracellular thiol levels and medium antioxidant activities by caffeine and the OTC drugs. INT 407 (A) and HCT 116 (B) cells were incubated with caffeine (0.5 and 1 mM) in the absence or presence of Ibu (2 mM), Asp (10 mM), or AAP (10 mM) for 2 h. Intracellular thiol levels in each treated cell were analyzed using mBBBr. Antioxidant activities of the culture media of HCT 116 cells after 2 h incubation treated with caffeine and/or each drug were also analyzed based on DPPH radical scavenging activity (C). Each bar represents the mean±SD (n=8). Significantly different from control according to Student's *t*-test (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$) (in A and B). Different letters indicate a significant difference ($p<0.05$) based on one-way ANOVA and the Tukey's HSD test.

리에 의해 대부분의 경우 GSH 수준이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 AAP와 카페인의 복합처리에 의한 GSH 수준의 증가가 두드러졌다(Fig. 4A and B). 이상의 결과는 GSH 고갈에 의해 약물독성이 강화되었을 것이라는 예상과는 달리, 세포 독성 유발 시 세포의 방어기작으로서 GSH 수준의 증가가 일어난다는 선행보고(21,22)와 관련된 현상으로 파악된다.

한편 카페인과 약물의 처리 시 세포 배양액의 환원력 변화를 DPPH 라디칼 소거활성으로 측정하였다. 세포에 처리하기 전 카

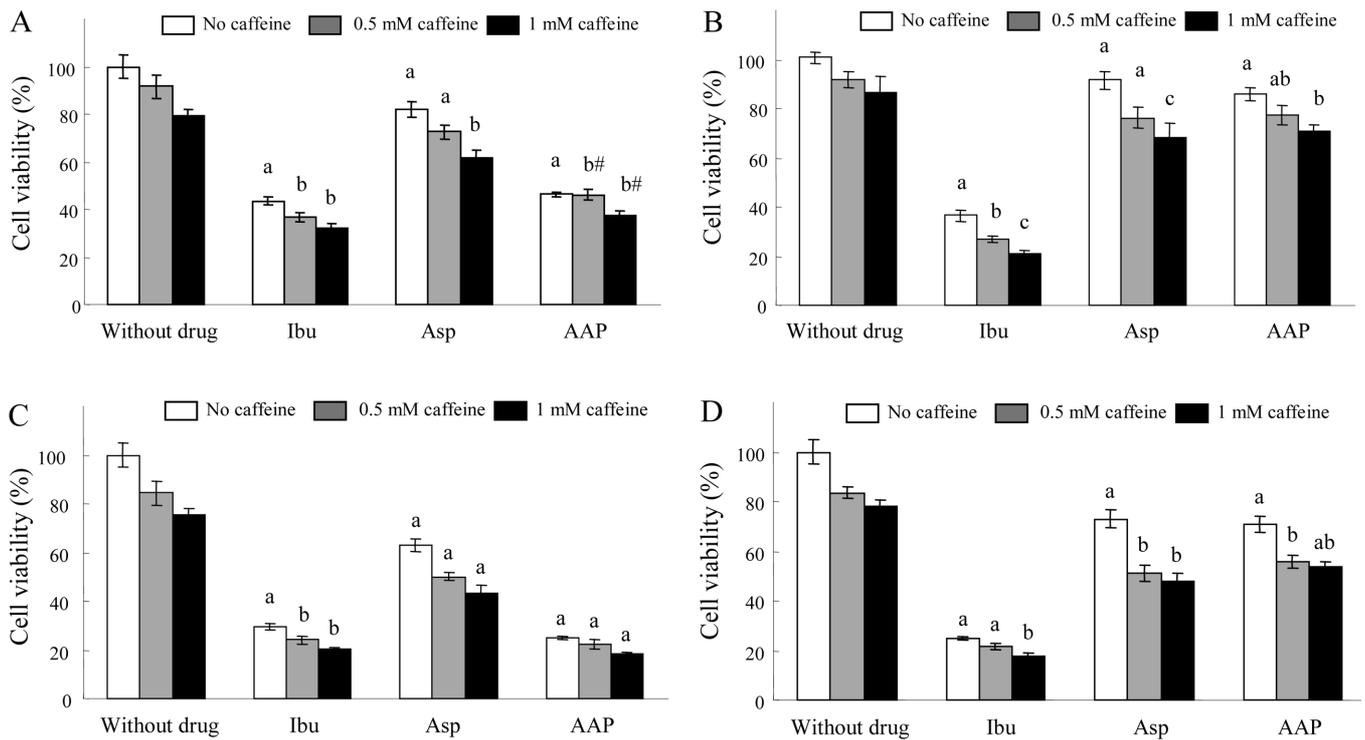


Fig. 5. Effects of caffeine and the OTC drugs on cell viabilities by different sequence of treatment scheme. INT 407 (A) and HCT 116 (B) cells were incubated with vehicle (DMSO) or caffeine (0.5 or 1 mM) for 24 h. The medium was then replaced by one containing vehicle, Ibu (2 mM), Asp (5 mM), or AAP (10 mM), and the cells were further incubated for 24 h. INT 407 (C) and HCT 116 (D) cells were also treated with vehicle, Ibu (2 mM), Asp (5 mM), or AAP (10 mM) for 24 h first. The treatment was replaced with or without caffeine and the cells were incubated for further 24 h. Each value represents the mean \pm SD (n=8). Different letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) among relative toxicities of the drug under conditions of caffeine treatment based on one-way ANOVA and the Tukey's HSD test. # indicates increased values of relative toxicity (in A).

페인 및 Ibu와 Asp는 처리농도에서 10%이내의 미미한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타낸 반면 10 mM AAP는 40% 정도의 현저한 소거활성을 나타내었으며, 카페인과 각 약물의 혼합에 의한 유의적인 소거활성의 변화는 나타나지 않았다(data not shown). 카페인과 약물의 처리에 의해 세포 내 GSH에 비교적 큰 변화를 보인 HCT 116 세포에 동일한 조건으로 2시간 처리한 후, 세포 배양액의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다. 카페인 단독처리군에서 약간의 활성감소가 나타났으나, 약물과의 복합처리에 의해 유의적인 변화는 나타나지 않았다(Fig. 4C). 특히 AAP를 처리한 배양액에서는 40%이상의 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었으나, 카페인과의 복합처리에 의한 변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과에 근거하여 세포 외액의 항산화 활성이 특히 AAP를 처리한 세포의 GSH 재생에 일부 영향을 주었을 것으로 사료되며 자세한 기작에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 보인다.

처리순서 변화에 의한 세포 독성 평가

식이 중의 생리활성 성분들이 약물과 동시에 섭취되어 상호작용도 발생할 수 있지만, 식이성분 섭취 전후에 따른 약물복용도 빈번히 발생할 수 있다. 따라서 카페인 처리 후 약물에 대한 반응 및 약물 처리 후 카페인에 대한 반응을 파악하기 위해 시간차를 두고 세포에 처리한 후 세포 독성 변화를 조사하였다. 카페인(0.5 or 1 mM)을 24시간 선처리한 후, 2 mM Ibu, 5 mM Asp 또는 10 mM AAP로 교체하고 24시간 더 처리하여 세포사멸 정도를 측정하였을 때, HCT 116보다 INT 407에서 카페인의 단독독성이 다소 강하게 나타났고, 카페인과 약물의 전후 처리에 의

한 세포 독성의 현저한 증가나 감소는 관찰되지 않았다(Fig. 5A and B). INT 407에서 카페인 처리상태를 기준으로 한 상대적 독성을 평가하였을 때(Fig. 5의 통계처리는 상대독성 결과에 근거하여 나타냄), Ibu와 Asp의 독성이 유의적으로 증가하였고 AAP의 독성은 감소하는 것으로 나타났으나(Fig. 5A) 그 증가와 감소 폭은 최대 6.7%이내였다(data not shown). 한편 카페인을 선처리한 HCT 116 세포에서 모든 약물의 상대적 독성이 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며(Fig. 5B), 특히 Ibu와 Asp의 상대독성이 15-20%정도 증가하였다(data not shown).

카페인 후처리구에서는 INT 407 및 HCT 116 세포에 위와 동일한 농도의 약물을 24시간 동안 처리한 후, 이어서 카페인으로 교체하여 24시간 더 처리하였다. 카페인 선처리구보다 후처리구에서 비교적 세포 독성이 더 강하게 발현되었으나, 전체적으로 선처리구와 유사한 양상을 나타내었다(Fig. 5C and D). INT 407 세포에서 카페인 처리상태를 기준으로 하여 약물의 상대적 독성을 계산하였을 때, 단지 Ibu의 독성이 유의적으로 증가하였고 그 증가폭도 4%이내였다(Fig. 5C). 하지만 HCT 116에서는 모든 약물의 상대적 독성이 유의적으로 증가하였으며 Asp의 증가 폭이 가장 큰 것으로 나타났다(Fig. 5D). 시간차를 두고 처리하였을 때 HCT 116 세포에서 주로 약물의 독성이 강화되는 현상을 나타내었으며, INT 407 세포에서 약물의 상대독성이 일관되게 증가하였던 당시 처리 시의 현상과는 다소 상이한 결과였다. 이러한 현상은 특히 카페인 전처리에 의해 HCT 116 세포의 약물에 대한 감수성이 증가하였거나, 카페인에 의해 야기된 HCT 116 세포 손상의 빠른 회복 등이 원인으로 사료되며 보다 면밀한 기작

검토가 필요할 것으로 보인다.

이상의 결과를 종합해 보면 카페인과 일반의약품 AAP, Asp 및 Ibu를 장관계 세포에 다양한 방법으로 처리하였을 때 약물의 상대독성이 일부 증가하는 것으로 나타났으며, INT 407 정상 장관계 세포에서는 동시 처리 시에, HCT 116 대장암 세포에서는 시간차를 둔 처리 시에 약물의 독성이 증가하는 경향을 보였다. 이러한 현상이 암 세포와 정상 세포의 일반적 경향인지, 아니면 세포 특이적인 현상인지는 향후 지속적인 연구를 통한 확인이 필요할 것으로 사료된다. 본 연구는 식이 중 널리 포함되는 카페인과 일반의약품이 함께 섭취되었을 때 발생할 수 있는 상호작용에 대한 기초 자료를 제공하며, 그간 간세포 중심으로 연구되어 왔던 약물의 세포 독성 평가와는 달리, 섭취한 성분들의 체내 흡수 및 각 조직으로의 분배 전에 고농도로 노출될 수 있으며 빈번한 직접적인 상호작용이 발생할 수 있는 장관계 세포를 타깃으로 진행되었다는 점에서 기존 연구와 차별을 둘 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

다양한 식품 중에 널리 분포되어 있는 생리활성 성분 카페인과 일반의약품 성분 AAP, Asp 및 Ibu와의 혼용 시 상호작용에 의한 세포 독성 변화를 장관계 세포모델에서 조사하였다. 카페인은 정상 장관계 세포 INT 407 및 대장암 세포 HCT 116에 농도 의존적인 독성을 나타내었고, IC₅₀ 수치는 각각 1.91과 2.45 mM 로써 정상세포에 유의적으로 높은 독성을 나타내었다. 카페인과 각각의 약물을 세포에 24시간 동시 처리한 결과 전체적으로 현저한 독성의 변화현상은 발생하지 않았으나, 약물처리 시를 기준으로 한 카페인의 상대적 독성 및 카페인 처리 시를 기준으로 한 약물의 독성이 INT 407 세포에서 유의적으로 증가하였다. 동시 처리 시 약물에 의해 감소된 GSH를 비롯한 thiol성 물질의 세포 내 수준이 카페인 존재 시에 유의적으로 증가하였다. 한편 카페인과 약물을 각각 순서를 달리하여 전후로 처리하였을 때, 특히 HCT 116 세포에서의 약물의 상대적인 독성이 강화되는 현상을 보였다. 일반의약품 AAP, Asp 및 Ibu과 카페인을 다양한 조합에 의해 장관계 세포에 처리하였을 때 일부 상대적인 독성의 강화 또는 약화 현상이 나타났으나 전체적으로 두드러진 독성발현 및 활성변화는 발견되지 않았다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단 기초연구사업 연구비 지원(과제번호: 2008-0059613)에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Chou T. Wake up and smell the coffee. Caffeine, coffee, and the medical consequences. *Western J. Med.* 157: 544-553 (1992)
2. Fredholm BB, Bättig K, Holmén J, Nehlig A, Zvartau EE. Actions of caffeine in the brain with special reference to factors that contribute to its widespread use. *Pharmacol. Rev.* 51: 83-133 (1999)

3. Davis JM, Zhao Z, Stock HS, Mehl KA, Buggy J, Hand GA. Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *Am. J. Physiol-Reg. I.* 284: R399-R404 (2003)
4. Nehlig A, Daval JL, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic, and psychostimulant effects. *Brain Res. Rev.* 17: 139-170 (1992)
5. Devasagayam TP, Kamat JP, Mohan H, Kesavan PC. Caffeine as an antioxidant: Inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. *Biochim. Biophys. Acta* 1282: 63-70 (1996)
6. Lu YP, Lou YR, Xie JG, Peng QY, Liao J, Yang CS, Huang MT, Conney AH. Topical applications of caffeine or (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) inhibit carcinogenesis and selectively increase apoptosis in UVB-induced skin tumors in mice. *P. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 12455-12460 (2002)
7. Hashimoto T, He Z, Ma WY, Schmid PC, Bode AM, Yang CS, Dong Z. Caffeine inhibits cell proliferation by G0/G1 phase arrest in JB6 cells. *Cancer Res.* 64: 3344-3349 (2004)
8. Tassaneeyakul W, Birkett DJ, Veronese ME, McManus ME, Tukey RH, Quattrochi LC, Gelboin HV, Miners JO. Specificity of substrate and inhibitor probes for human cytochromes P450 1A1 and 1A2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265: 401-407 (1993)
9. Goasduff T, Dreano Y, Guillois B, Menez JF, Berthou F. Induction of liver and kidney CYP1A1/1A2 by caffeine in rat. *Biochem. Pharmacol.* 52: 1915-1919 (1996)
10. Lessenger JE, Feinberg SD. Abuse of prescription and over-the-counter medications. *J. Am. Board Family Med.* 21: 45-54 (2008)
11. James LP, Mayeux PR, Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metab. Dispos.* 31: 1499-1506 (2003)
12. Mitchell J, Jollow D, Potter W, Davis D, Gillette J, Brodie B. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. role of drug metabolism. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187: 185-194 (1973)
13. Iqbal N, Ahmad B, Janbaz KH, Gilani AUH, Niazi SK. The effect of caffeine on the pharmacokinetics of acetaminophen in man. *Biopharm. Drug Dispos.* 16: 481-487 (1995)
14. Renner B, Clarke G, Grattan T, Beisel A, Mueller C, Werner U, Kobal G, Brune K. Caffeine accelerates absorption and enhances the analgesic effect of acetaminophen. *J. Clin. Pharmacol.* 47: 715-726 (2007)
15. Choi HA, Kim MR, Hong J. Evaluation of cytotoxic properties of tea polyphenols in intestinal cells treated with over-the-counter drugs. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 641-647 (2011)
16. Lee BH, Park YS, Kim JS, Yoo JH, Lee JK. Caffeine consumption and its related symptoms in university students. *J. Korean Acad. Fam. Med.* 28: 9-16 (2007)
17. Farber E, Rubin H. Cellular adaptation in the origin and development of cancer. *Cancer Res.* 51: 2751-2761 (1991)
18. Sato C, Izumi N, Nouchi T, Hasumura Y, Takeuchi J. Increased hepatotoxicity of acetaminophen by concomitant administration of caffeine in the rat. *Toxicology* 34: 95-101 (1985)
19. Farag MM, Abdel-Meguid EM. Hepatic glutathione and lipid peroxidation in rats treated with theophylline. Effect of dose and combination with caffeine and acetaminophen. *Biochem. Pharmacol.* 47: 443-446 (1994)
20. Poot M, Verkerk A, Koster JF, Jongkind JF. De novo synthesis of glutathione in human fibroblasts during *in vitro* ageing and in some metabolic diseases as measured by a flow cytometric method. *Biochim. Biophys. Acta* 883: 580-584 (1986)
21. Moskaug JO, Carlsen H, Myhrstad MC, Blomhoff R. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. *Am. J. Clin. Nutr.* 81: 277S-283S (2005)
22. Kim BR, Hu R, Keum YS, Hebbar V, Shen G, Nair SS, Kong AN. Effects of glutathione on antioxidant response element-mediated gene expression and apoptosis elicited by sulforaphane. *Cancer Res.* 63: 7520-7525 (2003)