

연구노트

산화적 손상에 의해 유도된 신경세포독성에 대한  
검정콩 껍질 추출물의 보호효과

곽지현<sup>1,2</sup> · 조유나<sup>1</sup> · 정지희<sup>1</sup> · 김현주<sup>1</sup> · 진수일<sup>1</sup> · 최성길<sup>1</sup> · 허호진<sup>1,\*</sup>  
<sup>1</sup>경상대학교 응용생명과학부, 농업생명과학연구원, <sup>2</sup>아미코젠(주)

Protective Effects of Black Soybean Seed Coat Extracts  
against Oxidative Stress-induced Neurotoxicity

Ji Hyeon Kwak<sup>1,2</sup>, Yu Na Jo<sup>1</sup>, Ji Hee Jeong<sup>1</sup>, Hyeon Ju Kim<sup>1</sup>, Su Il Jin<sup>1</sup>, Sung-Gil Choi<sup>1</sup>, and Ho Jin Heo<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Applied Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University

<sup>2</sup>Amicogen Inc.

**Abstract** Rat pheochromocytoma cells (PC12) and mice were utilized as *in vitro* and *in vivo* models to determine the neuroprotective effects of a 70% acetone extract of black soybean seed coat (BSSCE). BSSCE showed higher total phenolic contents than other extracts. Intracellular reactive oxygen species accumulation from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment of PC12 cells was significantly reduced when BSSCE was present in the media compared to PC12 cells treated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> only. The 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium-bromide (MTT) reduction assay and lactate dehydrogenase assay also showed significantly increased protective effects in PC12 cells. In addition, BSSCE improved the *in vivo* cognitive ability against amyloid beta peptide-induced neuronal deficits.

**Keywords:** *Glycine max* L. Merr., neuroprotective effect, oxidative stress

서 론

최근 경제성장과 더불어 생활수준의 향상으로 인한 well-being trend로 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아지면서 질병예방, 노화방지 등의 각종 생리활성을 가진 기능성 제품의 수요가 점차적으로 증가하고 있다(1). 노화란 생명체가 스트레스와 손상, 질병 등에 대항하는 능력이 점차적으로 감소하는 과정을 말하며(2), 수많은 노화에 관한 이론 중 산화적 스트레스 이론은 그 중 유력한 노화이론으로 받아들여지고 있다. 퇴행성 뇌 신경질환의 대부분을 차지하는 Alzheimer's Disease(AD)는 기억 능력과 인지 능력이 상실되는 임상적 특성을 가지고 있다. 이들 AD 환자에서 발견되는 병변학적인 요소 중 가장 중요한 것으로는 amyloid- $\beta$  protein(A $\beta$ )이 있고, 이는 강력한 치매 유발물질로 보고되고 있다(3). 더욱이 A $\beta$ 에 의한 뇌 신경세포독성은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 포함하는 활성산소종의 세포 내 증가로 산화적 스트레스와 매우 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다(4).

검정콩은 일반적인 콩이 갖는 영양적 기능 외에도 그 껍질에 함유된 특유의 색소로 인해 식미감을 증대시키고 다양한 생리적 유효 활성을 발휘하여 예부터 한방에서 제약 소재로도 사용하여

왔다(5). 현재까지 검정콩 껍질에 관한 연구로는 색소안정성, 항산화, 및 항암효과(6-8) 등이 보고되고 있으나 항산화성을 기반으로 한 신경세포 보호효과와 이와 관련된 인지기능 개선 연구는 상대적으로 미비한 실정이다. 따라서 본 연구의 목적은 검정콩 껍질 추출물을 이용하여 *in vitro* 항산화 효과 및 신경세포 보호 효과, 그리고 A $\beta$ 에 의해 유도되는 퇴행성 뇌신경질환으로서의 알츠하이머성 치매(AD) 예방효과를 위한 *in vivo* 인지·학습 회복 능력을 갖는 건강기능성식품 소재로서의 산업적 활용 가능성을 제시하고자 한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 시료는 진주시 내에 위치한 지역 마트에서 판매하는 검정콩(*Glycine max* L. Merr.)을 2011년 9월에 구입하여 껍질만을 분리하여 사용하였으며, 본 실험에 사용된 시약으로 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA), dimethyl sulfoxide (DMSO), Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) solution, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay kit 및 lactate dehydrogenase (LDH) release assay kit, A $\beta$ <sub>25-35</sub>은 Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)제품을 구입하였다. 세포배양을 위해 필요한 RPMI 1640 medium과 fetal bovine serum은 Gibco BRL Co. (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, penicillin, streptomycin, sodium bicarbonate와 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethane sulfonic acid (HEPES) 및 나머지 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co. 제품을 구입하여 사용하였다. 그 외 사용된 용매 및 시약은

\*Corresponding author: Ho Jin Heo, Division of Applied Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea  
Tel. 82-55-772-1907  
Fax: 82-55-772-1909  
E-mail: hjher@gnu.ac.kr  
Received January 31, 2013; revised February 23, 2013;  
accepted February 24, 2013

모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 추출물의 제조

검정콩 껍질의 추출물 제조 시에 사용한 용매로는 3차 증류수와 일반적으로 phenolics 추출 시 가장 보편적으로 활용되는 용매인 80% 에탄올 및 메탄올 그리고 검정콩을 70% 아세톤으로 추출 시 anthocyanins/procyanidins과 같은 성분들이 용이하게 추출되어 나온다는 연구결과(9)를 토대로 70% acetone을 포함한 네 가지 용매를 이용하여 추출을 하였다. 검정콩 껍질 5g에 각 용매 100 mL을 넣어 20분 동안 초음파 처리를 3회 반복을 통하여 추출·여과하였다. 그 후 진공농축기(N-N series, EYELA Co., Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조(Ilshin Lab Co., Ltd., Yangju, Korea)하여 사용하였고, 동결 건조된 추출물은  $-20^{\circ}\text{C}$  냉동고에서 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

### 세포배양

본 실험에서 사용한 PC12 세포(KCLB 21721, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 rat의 pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. PC12 세포를 25 mM HEPES, 25 mM sodium bicarbonate, 10% fetal bovine serum, 50 units/mL penicillin 및 100 mg/mL streptomycin 이 포함된 RPMI 1640배지에 접종하여  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  조건의 배양기에서 배양하였다.

### 총 페놀화합물 함량 측정 및 *in vitro* 항산화 활성

추출 시료 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL를 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합 용액을  $23^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물 함량(total phenolics)을 계산하였다(10).

PC12 세포내 산화적 스트레스 생성량을 측정하기 위하여 DCF-DA assay를 이용하여 측정하였다.  $10^5$ - $10^6$  cells/mL 해당하는 세포에 추출물 20  $\mu\text{L}$ 를 처리하여 48시간 배양한 후 200  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 2시간 처리한다. 다음 250  $\mu\text{M}$  DCF-DA를 넣어 50분간 배양하여 fluorometer (infinite F200, Tecan Group Ltd., Männedorf, Switzerland)로 485 nm (determination)와 535 nm (reference wave)에서 형광을 측정하였다(11).

### 신경세포 보호효과 측정

PC12 세포 생존율은 MTT reduction assay로 측정하였다(12). 추출물을 PC12 세포에 48시간동안 pre-incubation한 후, 차례대로 200  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 3시간, MTT stock solution을  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 3시간 배양한 후, DMSO 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 흡광도는 microplate reader (680, Bio-rad, Tokyo, Japan)에서 570 nm (determination)와 690 nm (reference wave)에서 측정하였다.

PC12 세포막 손상보호효과는 농도별 추출물을 48시간 동안 pre-incubation한 후, 200  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 처리하여 3시간 배양한 다음, 5분간 250 $\times$ g로 원심분리하여 침전시키고, 100  $\mu\text{L}$ 의 상등액을 새로운 well로 옮긴 후 LDH assay kit (Sigma-Aldrich Chemical Co.)로 측정하였다(12).

### 실험동물 및 식이

동물실험은 경상대학교 동물실험윤리위원회의 승인(GAR-101013-

M0006)하에 수행되었다. 본 실험에 사용된 동물은 4주령(25-30 g) ICR계 수컷 마우스를 실험동물 공급업체(Samtako, Osan, Korea)로부터 구입하여 5일간 환경 적응기간을 거치게 하였고, 2 마리씩 한 개의 사육 케이스에 넣고 항온( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), 습도(50-55%)가 유지되며, 12시간 간격으로 낮과 밤을 교대시키는 동일한 실험실 환경에서 사육하였다. 이들 흰쥐들은 정상 대조군 그룹, ICV (intra cerebro ventricular) injection 그룹(n=8), 샘플을 음용수로서 400, 800 및 1200 mg/kg body weight으로 처리한 그룹으로 나누어 실험을 진행하였다.

### *In vivo* 인지·기억 효능 평가

A $\beta$  ICV injection 2일 후 Y-maze 실험을 실시하였고, 실험에 사용되는 Y-maze는 검은색 플라스틱 재질로 3개의 arm으로 구성되어 있으며, 각 arm을 A, B, C로 정한 후 한쪽 arm에 마우스를 조심스럽게 놓고 8분 동안 마우스가 들어간 arm의 이동경로를 기록하였다. 3개의 서로 다른 arm에 차례로 들어간 경우 1점(actual alternation)씩 부여하여 계산되었다(13).

Passive avoidance 실험기구는 조명이 있는 밝은 챔버와 어두운 챔버, 2개의 구역으로 구분되어 있으며 바닥은 철망으로 이루어져 있다. A $\beta$  ICV injection 3일 후 passive avoidance 학습 시험(training trial)을 실시하였다. 각 마우스는 조명이 있는 챔버에서 조명을 켜지 않은 채 1분 동안 적응시킨 후 조명을 켜고 2분 동안 적응시킨 후 마우스가 어두운 챔버로 이동하자마자 전기충격을 0.5 mA, 1초 동안 가한다. 학습 시험을 시킨 다음날 각 마우스들을 대상으로 기억 시험(test trial)을 실시하였다. 조명을 켜 챔버에 마우스를 놓고 마우스의 네 발이 다 들어가는데 걸리는 시간(latency time)을 300초까지 측정하였다(14).

### 통계처리

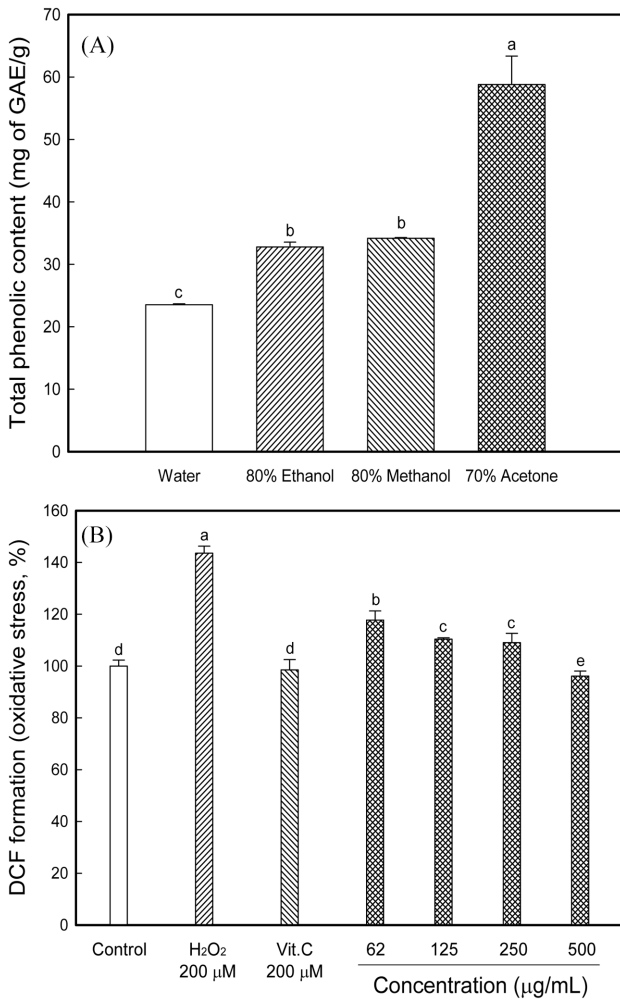
모든 실험은 각각 반복 실시하여 mean $\pm$ SD로 나타내었으며 실험군 간의 유의성은 SAS version 9.1 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)를 이용하여 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 페놀화합물 함량 및 *in vitro* 항산화 활성

검정콩 껍질 추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정된 결과 Fig. 1(A)와 같이 물, 80% 에탄올, 80% 메탄올 및 70% 아세톤 추출물에서 각각 23.5, 32.7, 34.1, 및 58.8 mg of GAE/g이 함유되어 있었다. 그 중에서 70% 아세톤 추출물이 가장 높은 총 페놀화합물 함량을 나타내었다. Kim 등(15)은 검정콩 껍질에서 발견되는 페놀화합물로 caffeic acid, chlorogenic acid, trans-cinnamic acid 등이 함유되어 있고, 이들 성분들은 항산화 활성, 항암 효과, 항미생물 효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한 70% 아세톤 용매를 이용하여 추출되는 anthocyanin 색소는 노화억제, 망막장애의 치료 및 시력개선 효과, 항산화 작용 등 다양한 생리활성을 갖는 것으로 보고됨(16)에 따라 페놀화합물과 anthocyanin계 색소가 다량 함유되어 있는 검정콩 껍질은 인체에 무해한 천연 색소 및 기능성 소재로써 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

상기 4가지 용매 추출물 중 총 페놀화합물 함량이 가장 높은 70% 아세톤 추출물을 선택하여 PC12 세포 내 산화적 스트레스 생성량에 대한 저해활성을 DCF-DA assay를 이용하여 측정하였으며 그 결과는 Fig. 1(B)와 같다. 산화적 스트레스를 유발하기 위해 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )를 사용하였으며 이는 지질 과산화와 함께 A $\beta$ 로 유도되는 산화적 손상 요인 중 중요한 요소로 작용한다(17).

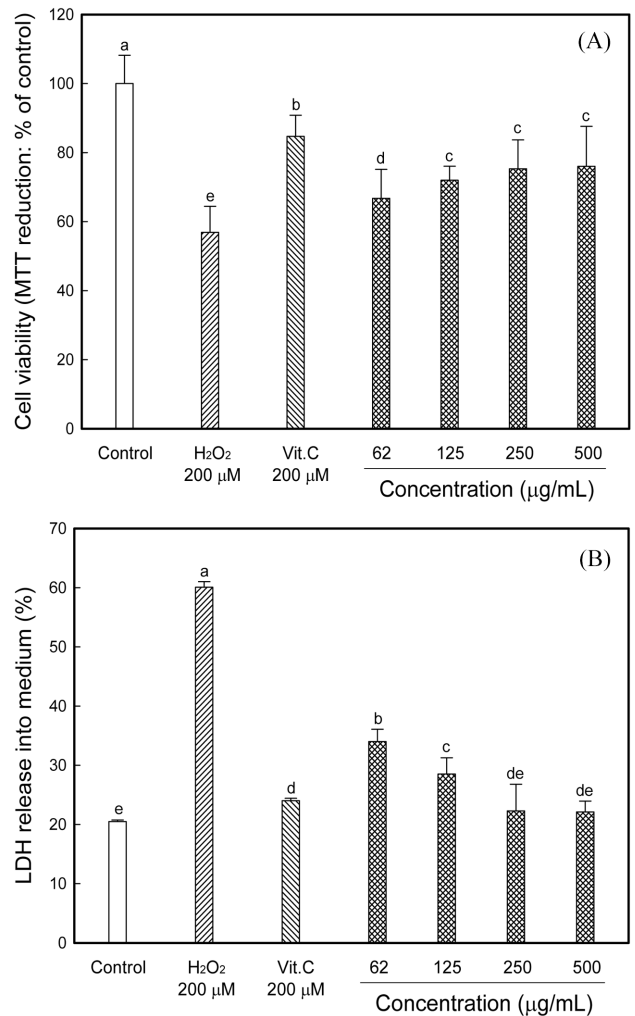


**Fig. 1.** Total phenolics of various solvent extracts from black soybean seed coat (A) and protective effect of the BSSCE against oxidative stress (B). Data represent the mean±SD (n=4) and mean separation within column by Duncan's multiple range test at  $p < 0.05$ .

PC12 세포 내 생성된 산화적 스트레스 생성량은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 처리구에서는 control구 100% 대비 143.5%의 산화적 스트레스 생성량을 나타냈고 positive control구인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 vitamin C를 동시에 처리한 처리구에서는 98.5%로 control구와 유사한 수준으로 산화적 스트레스 생성량이 감소하는 것으로 나타났다. BSSCE를 처리한 구에서는 추출물의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 산화적 스트레스 생성량이 감소하는 경향을 나타내었고, 특히 500 μg/mL 최고 농도에서는 200 μM vitamin C와 비슷한 수준으로 산화적 스트레스 생성량이 저해된 것을 알 수 있다. Kwon 등(18)은 검정콩 껍질이 free radical 소거 효과가 있다고 밝혔으며, 이는 Fig. 1에서 나타난 검정콩 껍질 추출물에 함유되어 있는 anthocyanins를 포함하고 있는 페놀화합물 등으로부터 기인한 것으로 생각된다.

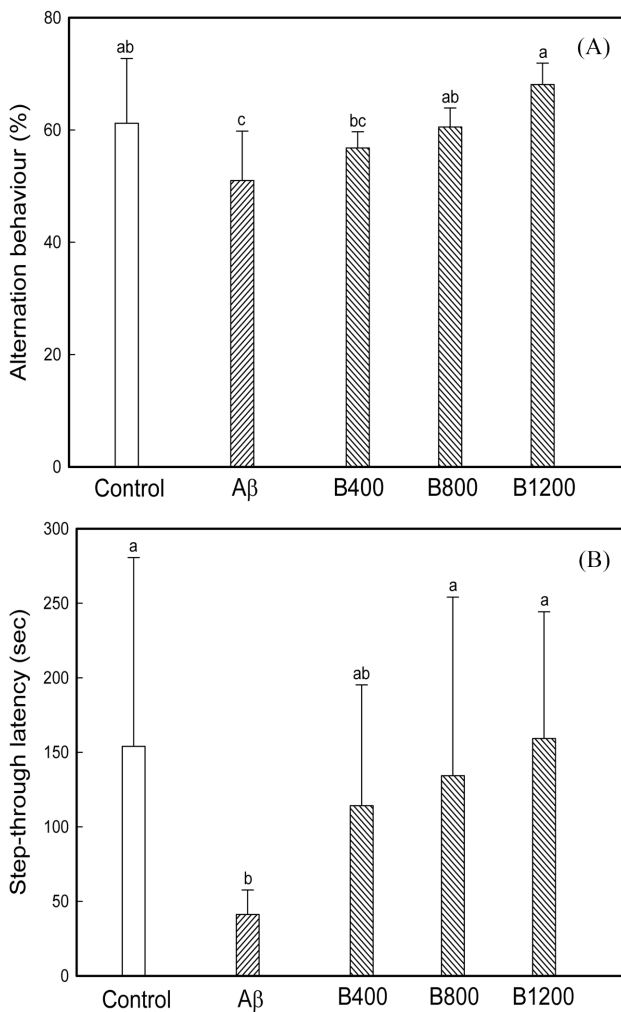
**신경세포 보호효과 측정**

AD는 기억 능력과 인지 능력이 상실되는 임상 특성을 가지고 있는 퇴행성 뇌신경 질환으로써 산화적 스트레스에 의한 뇌 신경세포의 사멸에 의해 발생되며, 천연 항산화 소재인 flavonoids, polyphenols 등은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호 효과가



**Fig. 2.** Protective effect of BSSCE against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cell death (A) and LDH release (B) in PC12 cells. Data represent the mean±SD (n=4) and mean separation within column by Duncan's multiple range test at  $p < 0.05$ .

뛰어난 것으로 보고되고 있다(19). MTT reduction assay는 탈수소 효소(mitochondrial dehydrogenase) 작용에 의해 노란색의 수용성 기질을 청자색을 띠는 비수용성 MTT formazan으로 환원시키는 mitochondria의 능력을 이용하는 측정법이며(20), 이를 이용한 BSSCE의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유도된 산화적 스트레스로부터 PC12 신경세포 생존율을 측정된 결과는 Fig. 2(A)와 같다. PC12 세포 생존율은 control구 100% 대비 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만을 처리한 구에서는 56.8% 생존율을 나타냈고 BSSCE를 처리한 구에서는 농도가 증가함에 따라 점차적으로 세포 생존율이 증가하는 것으로 나타났으며, 특히 500 μg/mL 농도에서 76.0%의 생존율로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>구 대비 약 20%정도의 신경세포 보호효과를 보였다. Kim 등(21)은 다양한 온도에서 볶은 검정콩을 이용한 PC12의 세포생존율을 측정된 실험에서 50 μM의 과산화수소와 시료를 함께 처리했을 경우, 그렇지 않은 경우보다 세포생존율이 50% 감소하는 것을 보고한 바 있다. 이는 본 실험의 결과와 상대 비교하였을 때 검정콩보다는 검정콩 껍질을 이용한 것과, 그 추출법에서 증류수보다 70% 아세톤을 통해 추출된 유효 성분이 과산화수소로부터 유도된 손상으로부터 신경세포를 보호하여 세포생존율을 높여준 것으로 사료된다.



**Fig. 3.** Effect of BSSCE on spontaneous alternation behavior (A) and step-through latency in the passive avoidance test (B). The BSSCE was dissolved in water. Spontaneous alternation behaviors were measured during 8 min. The step-through latency was measured during 300 s. Values indicate mean±SD (n=8) and mean separation within column by Duncan's multiple range test at  $p < 0.05$ .

뇌는 다른 조직에 비해서 산화적 손상에 대해 비정상적으로 매우 민감하고, 뇌 신경세포막에서의 과산화에 대한 많은 연구들은 이를 뒷받침해준다(22). 뇌 신경세포막은 그 기능으로 인해 매우 풍부한 불포화지방산을 함유하고 있으며, 뇌 신경세포막에서의 지방 과산화는 세포 사멸의 가장 중요한 폐해 중의 하나로 보고되고 있다(22). 따라서 뇌는 산화적 스트레스에 매우 취약한 구조적 특성을 가지고 있으므로 신경세포 보호효과와 더불어 신경세포막 손상과의 관계를 알아보하고자 LDH release assay를 진행하여 세포막 손상 보호효과를 알아보았으며, 그 결과는 Fig. 2(B)와 같다. Control구의 방출량은 20.5% 정도인데 반해  $H_2O_2$ 만을 처리한 구는 약 60.0%의 LDH 방출량을 나타내어 세포막이 크게 손상되어짐에 따라 LDH 방출량이 늘어남으로써 살아있는 신경세포의 생존율이 줄어들었다는 것을 알 수 있다. 반면 positive control로서 200  $\mu$ M vitamin C 처리군은 24.0%의 LDH 방출량을 보였고, BSSCE를 처리한 구는 농도 의존적으로 LDH 방출량이 감소하여 500  $\mu$ g/mL 농도에서는 약 22%로 control구와 유사한 수준으로 낮은 LDH 방출량을 보였다. 위 결과로 보아 BSSCE에는

$H_2O_2$ 에 의해 유발된 신경세포막 손상으로부터 보호효과를 보이는 phenolics를 포함한 생리활성물질이 다량 함유되어 있을 것으로 판단되며, 보호효과 이해를 위해서는 검정콩 껍질 추출물의 특정 생리활성물질이 항산화 활성과 신경세포 보호효과에 있어서 작용을 하는 것인지에 대한 명확한 반응 mechanism을 확인할 필요가 있을 것으로 사료된다.

### In vivo 인지·기억 효능 평가

AD와 같은 퇴행성 뇌신경질환에서 나타나는 기억 능력 상실과 다른 인지결함은 신호전달물질인 acetylcholine (ACh)을 분해하는 acetylcholinesterase (AChE)에 의해 더욱 진행된다(23). 본 연구에서는 뇌의 해마부위에 비가역적인 손상을 일으킴으로써 AD와 유사한 증상을 나타내는 Aβ를 이용하여 기억력과 학습능력이 감퇴된 마우스 모델을 대상으로 Y-maze test를 실시하였으며 그 결과는 Fig. 3(A)와 같다. 8분 동안 Y-maze에서의 마우스의 행동을 관찰한 결과, Aβ 처리구는 control구 (61%) 대비 51%로 상대적으로 기억 능력 저하를 보였다. 이에 반해 B400, B800 및 B1200 처리구는 각각 57, 61, 68%로 Aβ 처리구와 비교하였을 때 농도 의존적인 공간 인지 능력을 개선시킬 뿐만 아니라 control구와 유사하거나 다소 높은 수준을 나타냈다.

Y-maze test에 이어 BSSCE를 섭취한 마우스의 인지 기능 및 기억 능력 회복효과를 확인하기 위해 passive avoidance test를 실시한 결과는 Fig. 3(B)와 같다. Aβ 처리구의 latency time은 41.2 초로 control구(153.9초)에 비하여 학습 및 인지기능이 현저히 감소하였다. Aβ 처리구와 비교하였을 때 B400, B800, B1200 처리구는 섭취량이 증가함에 따라 인지기능이 크게 회복되는 것으로 나타났다. 특히, B1200 처리구는 Aβ 처리구에 비해 학습 및 인지기능을 약 118% 개선시킨 것으로 나타났다. Rat에 Aβ injection으로 산화적 손상을 유도하여 대두로부터 분리된 isoflavones 중의 하나인 genistein을 이용하여 학습 및 인지기능을 실험한 결과(24), 본 실험과 마찬가지로 Aβ 처리구보다 sample구의 학습 및 인지기능 효과가 있는 것으로 나타났으나, 활성에 있어서는 검정콩 껍질이 더 우수한 것으로 나타났다. 따라서 BSSCE 역시 본 결과에서 나타나는 최대 세포보호 효과 농도(500  $\mu$ g/mL)와 유사한 수준(400 mg/kg body weight)으로 섭취하였을 때 control 이상의 인지 및 기억 능력 회복효과를 보여줌으로써 검정콩 껍질을 활용한 소재 및 기능성 성분은 AD와 같은 퇴행성 뇌신경질환 예방 등에 활용 가능성이 있을 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구는 산화적 스트레스로부터 유도되는 신경세포 사멸을 보호할 수 있는 생리활성물질을 탐색하기 위하여 검정콩 껍질 추출물의 항산화 효과 및 PC12 신경세포 보호효과에 대하여 조사하였다. 다양한 용매에 의해 추출된 검정콩 껍질 추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정된 결과 70% acetone 추출물이 다른 용매 추출물에 비하여 가장 높은 총 페놀화합물 함량을 나타내었으며, 이를 기초로 70% acetone 추출물을 이용한 세포 내 항산화 활성도 높은 것으로 나타났다. 또한 PC12 신경세포 보호효과를 조사한 결과, 세포생존율과 세포막 손상 보호효과에서 70% acetone 추출물 처리구는 최대 500  $\mu$ g/mL까지  $H_2O_2$ 를 처리한 대조구에 비하여 농도 의존적으로 신경세포 보호효과가 나타남을 알 수 있었다. 동일 추출물을 활용한 in vivo 인지학습능력 평가에서도 대조구인 Aβ ICV injection을 한 group과 비교하였을 때 전체적으로 추출물의 농도가 증가할수록 Y-maze test와 passive avoidance

test에서 control구와 유사하거나 높은 인지 및 기억 능력 회복효과를 보여주었다.

본 연구결과를 종합해 보면 BSSCE는 항산화, 뇌 신경세포 보호효과 및 *in vivo* 인지·기억 회복능을 갖는 것으로 판단되며, 추후 검정콩 껍질에 존재하는 유효 생리활성물질을 확인함으로써 현대 사회의 가장 큰 질병 중 하나인 알츠하이머성 치매(AD)와 같은 퇴행성 뇌신경질환 예방에 유용한 소재가 될 것으로 판단된다.

### 감사의 글

본 연구는 한국학술진흥재단에 의해 지원된 연구(KRF-2011-0021664) 결과의 일부로 이에 감사 드립니다.

### 문헌

- Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Mufoiz FJ, Ruiz F, Leighton F, Inestrosa NC. The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid  $\beta$ -peptide in Alzheimer's disease. *Prog. Neurobiol.* 62: 633-648 (2000)
- Munoz G, Feldman H. Cause of Alzheimer's disease. *Can. Med. Assoc. J.* 162: 65-72 (2000)
- Kim NH, Jeong MS, Choi SY, Kang JH. Oxidative modification of cytochrome c by hydrogen peroxide. *Mol. Cells* 22: 220-227 (2006)
- Choi SJ, Kim MJ, Heo HJ, Hong B, Cho HY, Kim YJ, Kim HK, Lim ST, Jun WJ, Kim EK, Shin DH. Ameliorating effect of *Gardenia jasminoides* extract on amyloid beta peptide-induced neuronal cell deficit. *Mol. Cells* 24: 113-118 (2007)
- Hu CC, Hsiao CH, Huang SY, Fu SH, Lai CC, Hong TM, Chen HH, Lu FJ. Antioxidant activity of fermented soybean extract. *J. Agr. Food Chem.* 52: 5735-5739 (2004)
- Graber M, June CH, Samelson LE, Weiss A. The protein tyrosine kinase inhibitor Herbimycin-A, but not genistein, specifically inhibits signal transduction by the T-cell antigen receptor. *Int. Immunol.* 4: 1201-1210 (1992)
- Hendrich S, Lee KW, Xu X, Wang HJ, Murphy PA. Defining food components as new nutrients. *J. Nutr.* 124: 1789S-1792S (1994)
- Bettini V, Fiori A, Martino R, Mayellaro R, Ton P. Study of the mechanism whereby anthocyanosides potentiate the effect of catecholamines on coronary vessels. *Fitoterapia* 54: 67-72 (1985)
- Ariga T, Asao Y, Sugimoto H, Yokotsuka T. Occurrence of astringent oligomeric proanthocyanidins in legume seeds. *Agr. Biol. Chem.* 45: 2705-2708 (1981)
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. *Food Chem.* 81: 321-326 (2003)
- Kim JK, Choi SJ, Cho HY, Hwang HJ, Kim YJ, Lim ST, Kim CJ, Kim HK, Peterson S, Shin DH. Protective Effects of Kaempferol (3,4,5,7-tetrahydroxyflavone) against Amyloid Beta Peptide (A $\beta$ )-Induced Neurotoxicity in ICR Mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 397-401 (2010)
- Heo, HJ, Lee CY. Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. *J. Agr. Food Chem.* 53: 1984-1989 (2005)
- Yan JJ, Cho JY, Kim HS, Kim KL, Jang JS, Huh SO, Suh HW, Kim YH, Song DK. Protection against  $\beta$ -amyloid peptide toxicity *in vivo* with long-term administration of ferulic acid. *Brit. J. Pharmacol.* 133: 89-96 (2001)
- Kim MJ, Choi SJ, Lim ST, Kim HK, Heo HJ, Kim EK, Jun WJ, Cho HY, Kim YJ, Shin DH. Ferulic acid supplementation prevents trimethyltin-induced cognitive deficits in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 1063-1068 (2007)
- Kim SH, Kwon TW, Lee YS, Choung MG, Moon GS. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 73-77 (2005)
- Kim HB. Quantification of cyanidin-3-glucoside (C3G) in mulberry fruits and grapes. *Korean J. Seric. Sci.* 45: 1-5 (2003)
- Behl C, Davis JB, Lesley R, Schubert D. Hydrogen peroxide mediates amyloid  $\beta$  protein toxicity. *Cell* 77: 817-827 (1994)
- Kwon TW, Song YS, Kim JS, Moon GS, Kim JI, Honh JH. Current research on the bioactive functions of soyfoods in Korea. *Korea Soybean Digest* 15: 1-12 (1998)
- Zhao, B. Natural antioxidants protect neurons in alzheimer's disease and parkinson's disease. *Neurochem. Res.* 34: 630-638 (2009)
- Kim SS, Park RY, Jeon HJ, Kwon YS, Chun W. Neuroprotective effects of 3, 5-dicaffeoylquinic acid on hydrogen peroxide-induced cell death in SH-SY5Y cells. *Phytother. Res.* 19: 243-245 (2005)
- Kim HG, Kim GW, Oh H, Yoo SY, Kim YO, Oh MS. Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). *LWT-Food Sci. Technol.* 44: 992-998 (2011)
- Grundman M, Delaney P. Antioxidant strategies for Alzheimer's disease. *P. Nutr. Soc* 61: 191-202 (2009)
- Bryan-Sisneros AA, Fraser SP, Suh YH, Djamgoz MB. Toxic effect of the beta-amyloid precursor protein scopolamin induced hypermollility in rats. *Pharm. Pharmacol.* 45: 841-843 (1993)
- Bagheri M, Joghataei MT, Mohseni S, Roghani M. Genistein ameliorates learning and memory deficits in amyloid  $\beta_{(1-40)}$  rat model of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Learn. Mem.* 95: 270-276 (2011)