

곤드레 또는 참취를 함유한 빵의 뇌신경 보호효과

권기한 · 임희경 · 정미자[†]

광주대학교 식품영양학과

Neuroprotective Effects of Bread Containing *Cirsium setidens* or *Aster scaber*

Ki Han Kwon, Heekyung Lim, and Mi Ja Chung[†]

Dept. of Food Science & Nutrition, Gwangju University, Gwangju 503-703, Korea

ABSTRACT This study investigated the neuroprotective effects of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CS) or *Aster scaber* (AS) against H₂O₂-induced death of human brain neuroblastoma SK-N-SH cells. Treatment with bread containing extract from CS (CSB) or AS (ASB) reduced H₂O₂ cytotoxicity in SK-N-SH cells, the intracellular ROS level, and the phospho-p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) level. In the sensory evaluation, wild vegetable flavor scores of CSB were higher than those of ASB and bread containing 0% CS or AS (NB). In terms of appearance, color, flavor, softness, and overall acceptability, CSB and ASB showed higher scores than NB, but no differences were observed between CSB and ASB. These results indicate that CSB and ASB have potent health benefits in terms of neuroprotection against oxidative stress mediated through antioxidant activity and inhibition of p38 phosphorylation in brain neural cells. Thus, CS and AS could be considered as a health functional material.

Key words: antioxidant activity, brain, neuroprotective effects, oxidative stress, SK-N-SH cells

서 론

대표적인 뇌질환으로 알츠하이머병(Alzheimer's disease), 파킨슨병(Parkinson's disease), 뇌졸중(stroke) 등과 같은 뇌신경질환은 자유 라디칼과 같은 활성산소종이 중요한 역할을 한다고 보고되어져 있다. 이들 뇌질환은 뇌세포 내에서 산화적 스트레스에 의해 생성되는 각종 활성산소종이 신경세포를 손상시키는 것이 주요한 병인에 해당한다(1,2). 특히 뇌조직은 자유 라디칼 공격에 대해서 민감한 것으로 알려져 있는데, 이러한 이유는 뇌 신경세포에는 방어 메커니즘이 충분하지 못하며 산화되기 쉬운 다가불포화지방산(long chain unsaturated fatty acids)이 고농도로 존재하고, 라디칼 형성 시 촉매로 이용되는 금속이온(Fe²⁺, Cu²⁺)이 존재하기 때문이다(3). 따라서 이들 신경질환을 효과적으로 예방 또는 치료할 수 있는 약물을 개발하기 위한 노력의 일환으로 항산화 작용을 나타내는 물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 많은 종류의 항산화 물질은 국소 또는 전체 뇌허혈 동물모델에서 효과를 발현하는 것으로 보고되어 있고(4), 또한 α-토코페롤은 심한 기억력 손상을 수반한 알츠하이머병 환자의 질병의 진행속도를 완화시키는 것으로 알려졌다. 또한 파킨슨병 치료도 활성산소종 소거작용을 나타내므로 치료 효과를 나타내는 약들이 사용되고 있다(5). 그러나 현

재 알츠하이머병, 파킨슨병 등과 같은 뇌질환을 완전히 치료할 수 있는 방법은 없으므로 예방이 가장 중요하다.

본 연구에서는 다양한 식물을 대상으로 항산화 물질을 연구하던 중 참취(*Aster scaber*)와 곤드레(고려엉겅퀴, *Cirsium setidens*)에서 항산화 작용 및 뇌신경세포 보호 효과를 나타내는 물질을 확인하게 되었다.

참취는 우리나라 전국 각지의 산야지에 흔히 자생하며, 일상생활에 많이 애용되는 산채류 중의 하나이다. 참취는 해수, 이노, 보익, 방광염, 두통, 현기증 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있고(6), 생리활성에 관한 연구로는 유전독성 억제 효과(7), 지방대사와 항산화에 미치는 영향(8), 고지혈증 예방 효과(9,10) 등이 보고되어져 있다.

곤드레는 초롱꽃목 국화과의 여러해살이풀로 5~6월에 식재료로 사용하기 위해 채취하고 7~10월에 꽃이 피고 열매는 11월에 익는다. 한국 특산종으로 전국에 분포한다고 알려진 산채이며, 지혈, 토혈, 비혈 및 고혈압의 치료에 이용되어 왔다(11,12). 곤드레는 맛이 담백하고 부드럽고 독특한 향이 특징이며, 예부터 구황식물로 많이 먹었다. 곤드레는 어린 순을 데쳐서 나물, 장아찌, 튀김으로 먹거나 생으로 쌈을 싸서 먹는 것, 나물밥으로 만들어 먹는 것 등 다양한 방법으로 조리할 수 있다.

본 연구에서는 참취 및 곤드레를 이용한 다양한 건강식품 개발하기 위하여 아침 대용으로 섭취 가능한 모닝빵 제조에 참취 또는 곤드레 주정 추출물을 일정량 첨가하여 알츠하이머병, 파킨슨병 등과 같은 뇌질환을 예방할 수 있는 건강기

Received 5 February 2014; Accepted 17 March 2014

[†]Corresponding author.

E-mail: mijachung@gwangju.ac.kr, Phone: +82-62-670-2049

능성 모닝빵을 제조하고자 하였다.

재료 및 방법

추출물의 제조

강원도 양양에서 재배된 참취(*Aster scaber*)와 곤드레(고려엉겅퀴, *Cirsium setidens*)를 구입하여 건조 후 분쇄하였다. 분말 시료 중량의 10배인 70% 주정을 첨가하여 실온에서 8시간 동안 3회 추출하였다. 여과하여 얻은 액상은 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 진공 동결 건조기를 이용하여 동결 건조하였다. 동결 건조된 분말 형태의 곤드레 추출물(CS)과 참취 추출물(AS)은 -20°C 의 냉동고에 보관하면서 빵을 제조할 때 사용하였다. CS가 함유한 곤드레 모닝빵, AS가 함유한 참취 모닝빵 그리고 추출물을 함유하지 않은 일반 모닝빵은 동결 건조하여 분말화한 후 시료 중량 10배의 70% 주정을 첨가하여 실온에서 8시간씩 3회 추출하였다. 추출액을 여과한 후 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 뒤 동결 건조하여 곤드레 모닝빵 추출물(CSB), 참취 모닝빵 추출물(ASB) 그리고 일반 모닝빵 추출물(NB)을 얻었고, -20°C 의 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 제조

본 실험에 사용된 모닝빵은 밀가루 100% 기준으로 분말 상태의 참취 추출물 및 곤드레 추출물을 각각 1%씩 첨가하였고, 제빵의 반죽 배합비는 Table 1과 같다. Table 1의 배합비에 따라 전제료를 믹싱(저속 5분, 고속 5분)하여 혼합한 후, 온도 30°C , 상대습도 80%의 조건에서 30분 동안 1차 발효한 다음 분할하여(플로아 타임 10분, 실온 25°C) 성형하였다. 그 다음 30°C , 상대습도 80% 조건에서 2차 발효시켰고, 2차 발효가 끝난 반죽은 190°C 에서 구웠다. 냉각 후 포장하여 본 연구에 사용하였다.

Table 1. Formulas of bread added with extract from *Cirsium setidens* or *Aster scaber* (Unit: g)

Ingredients	NB	CSB	ASB
Wheat flour	1,010	1,000	1,000
Salt	10	10	10
Sugar	150	150	150
Yeast	30	30	30
Egg	100	100	100
Water	420	420	420
Olive oil	100	100	100
CS		10	
AS			10
Total	1,820	1,820	1,820

AS: extract from *Aster scaber*, CS: extract from *Cirsium setidens*. NB: extract from normal bread, ASB: extract from bread added with AS, CSB: extract from bread added with CS.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거능은 일정 농도의 시료(1.8 mL)와 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)(1.5×10^{-4} M, 1.2 mL) 용액을 잘 혼합한 다음 37°C 에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 대조구에 대한 시료 첨가구의 흡광도를 비교하여 $[1 - (\text{시료의 흡광도}/\text{대조구의 흡광도})] \times 100$ 에 의하여 %로 나타내었다.

세포 배양 및 처리

사람의 신경모세포종 SK-N-SH를 10% 비활성화 우태아 혈청(fetal bovine serum)과 1% 페니실린-스트렙토마이신 용액(penicillin/streptomycin)을 넣은 Eagle's Minimum Essential Medium(EMEM; ATCC, Manassas, VA, USA) 배양액으로 5% CO_2 가 공급되는 배양기에서 37°C 조건으로 배양하였다.

충분한 세포를 얻기 위해 배양용 플라스크($T75 \text{ cm}^2$)에서 세포를 배양하고, 2~3일에 한 번씩 배지를 80% 교체하여 충분히 자랐을 때 trypsin-EDTA(ethylene diamine tetraacetic acid) 용액($1 \times$)을 사용하여 부착된 세포를 떼어낸 후 성장배지에 세포수를 1×10^4 cells/well과 2×10^4 cells/well로 조정하여 96-well plates에 세포를 깔아주고 24시간 동안 배양하여 MTT assay와 세포 내 ROS를 검출하기 위하여 사용하였다. 1~2일 후 일반 모닝빵 추출물(NB), 곤드레 추출물이 함유된 곤드레 모닝빵 추출물(CSB) 그리고 참취 추출물이 함유된 참취 모닝빵 추출물(ASB)을 우태아 혈청과 항생제를 첨가하지 않은 성장배지로 희석하여 24시간 단독 처리하여 시료의 세포독성을 알아보았다. 산화적 스트레스에 대항하는 시료의 뇌신경세포 보호 효과를 알아보기 위해 NB, CSB 그리고 ASB 각각을 $500 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ 와 30분간 SK-N-SH 세포에 동시에 처리하였다. 무처리군과 $500 \mu\text{M H}_2\text{O}_2$ 처리군은 대조군 및 양성 대조군으로 사용하였다.

세포내 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 측정

SK-N-SH 세포내에서 산화적 스트레스(oxidative stress)의 유무 및 시료가 뇌신경세포 내 ROS를 소거할 수 있는지를 확인하기 위해서 2,7-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)를 probe로 이용한 SK-N-SH 세포내 생성된 ROS 양을 측정하였다. 10 mM DCF-DA를 만들어 $10 \mu\text{M}$ 농도가 되도록 PBS로 희석시켰다. 세포에 배지를 제거한 후 $10 \mu\text{M}$ DCF-DA 용액을 세포에 더한 후 37°C 에서 45분간 배양하였다. DCF-DA 용액을 제거한 후 PBS로 남아 있는 DCF-DA를 완전히 제거한 후 PBS를 더하여 5분간 배양시켰다. 세포내 형광 광도의 변화를 형광광도계(BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 488 nm(excitation)와 525 nm(emission)에서 측정하였다(13).

세포 생존율 측정

배양이 끝난 SK-N-SH 세포의 생존율은 Chung 등(14)이 사용한 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-dipheylterazolium bromid] 환원 방법을 이용하여 측정하였다. 즉 각 well MTT 용액(5 mg/mL)을 성장배지의 10분의 1로 가해 주고 다시 37°C에서 4시간 더 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazon이 배지에 따라 나가지 않도록 배지를 조심스럽게 제거하였다. 남아 있는 배지를 완전히 제거하기 위해 실온에서 30분간 방치한 후 DMSO를 이용하여 용해시킨 시료를 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정 시 공시료는 DMSO로 하였고 세포의 생존율은 아래와 같이 계산하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{시료 처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

세포내 p38 MAPK 인산화 측정

SK-N-SH 세포내 p38 MAPK의 인산화를 알아보기 위해 시료를 처리한 세포에서 단백질을 분리하여 p38 MAPK의 인산화 정도를 MAPK(Thr180/Tyr182) Sandwich ELISA Kit(Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA)를 사용하여 enzyme-linked immunoabsorbent assay(ELISA)를 제조사의 방법에 따라 수행하였다.

관능검사

빵의 관능검사는 식품영양학을 전공하고 있는 대학생 50명을 선정하여 본 실험의 목적과 평가방법에 대한 교육 후 5점 척도법으로 실시하였다. 관능검사 설문조사에서 일반 모닝빵을 대조군으로 하여 참취 모닝빵 그리고 곤드레 모닝빵을 비교하여 평가하는 방식으로 이루어졌다.

제품의 특성강도[쓴맛(bitterness), 산채향(wild vegetable flavor), 뚝은맛(astringency), 이취(off-flavor)]와 소비자 기호도 평가 항목[외관(appearance), 색상(color), 향미(flavor), 부드러움(softness), 종합적인 기호도(overall acceptability)]으로 나누었고 제품의 특성강도 항목은 아주 심하면 5점, 전혀 없다는 1점으로 나타낸다. 소비자 기호도 평가 항목은 대단히 좋아한다는 5점, 좋지도 싫지도 않다는 3점 그리고 대단히 싫어한다는 1점으로 나타낸다. 관능검사에 참여한 지원자들은 설문지에 나이와 성별 등을 기록하고 빵 15 g을 입 안에 넣고 20초간 씹어 구강표피를 골고루 자극한 후 뱉어내고, 한 시료의 평가를 마칠 때마다 물로 입을 세척하고 10분 경과된 후 다음 시료를 평가한다.

통계처리

본 실험 결과들은 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검정하였으며 P<0.05 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS

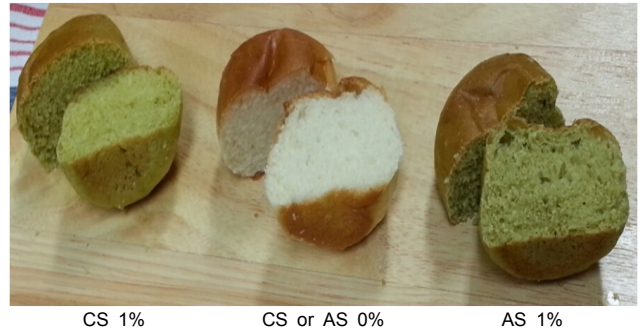


Fig. 1. The pictures of the surface of bread added with extract from *Cirsium setidens* (CS) or *Aster scaber* (AS).

(Statistical Package for the Social Science) version 12.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

개발한 모닝빵

참취 70% 주정 추출물과 곤드레 70% 주정 추출물을 사용하여 제조한 빵의 단면 사진은 Fig. 1에 표시하였고, 개발된 빵의 70% 주정 추출물의 동결건조 분말을 모든 실험에 사용하였다.

DPPH 라디칼 소거작용

DPPH 라디칼은 보라색의 비교적 안정적 자유 라디칼로서 항산화 활성이 있는 물질에 의해 환원되면 변색이 되므로 시료의 항산화 효능을 확인하기 위하여 사용하였다(13). 곤드레 모닝빵 70% 주정 추출물(CSB)과 참취 모닝빵 70% 주정 추출물(ASB)의 항산화 효과를 알아보기 위해 CSB, ASB 그리고 일반 모닝빵 추출물(NB)의 DPPH 라디칼 소거작용을 알아보았다(Fig. 2). CSB와 ASB는 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었고, 둘 다 NB보다 높은 DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었다(Fig. 2). CSB보다는 ASB가 더 높은 DPPH 라디칼 소거작용 활성을 가지고 있었다.

Jeon 등(15)의 보고에서는 참취 70% 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었고, 0.5 mg/mL와 1 mg/mL 농도에서 각각 89.3%와 96.3% DPPH 라디칼 소거능을 보여주었다. 본 실험에서는 참취 70% 주정 추출물을 함유하고 있는 ASB는 같은 농도(0.5 mg/mL와 1 mg/mL)에서는 36.7%와 64.3% DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었고, ASB 2 mg/mL 농도에서는 93% DPPH 라디칼 소거작용을 나타내었다.

따라서 곤드레 모닝빵과 참취 모닝빵은 곤드레 및 참취가 가지고 있는 항산화 효과를 그대로 가지고 있다는 것을 확인할 수 있었다.

Yoon 등(16)은 강력한 항산화 물질인 안토시아닌과 플라

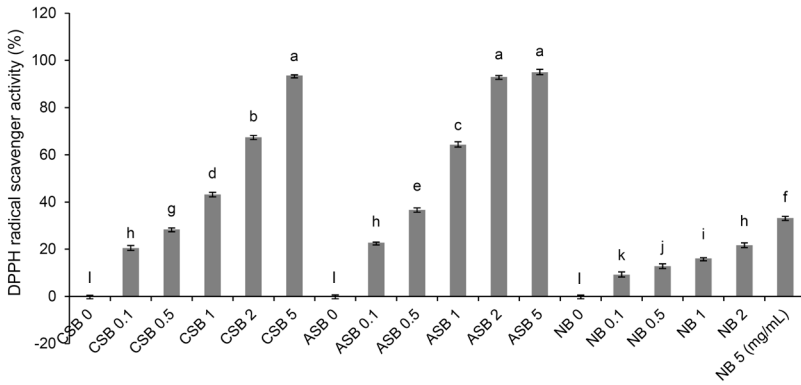


Fig. 2. DPPH radical scavenger activity of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CSB) or *Aster scaber* (ASB). Control used bread without extract from *Cirsium setidens* or *Aster scaber* (NB). Values are mean±standard deviation (n=6). ^{a-f}Mean values with different letters above the bars are significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test.

보노이드를 함유하고 있는 아로니아 분말을 첨가한 식빵 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용을 알아보았고, Yoon 등(17) 역시 안토시아닌을 함유하고 있는 벼찌 분말이 첨가된 식빵 추출물의 DPPH 라디칼 소거작용을 알아 본 결과 아로니아 분말 및 벼찌 분말의 항산화 활성은 식빵 제조 후에도 남아 있는 것으로 보고하여 본 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

세포 생존율

CSB, ASB 그리고 NB를 각각 사람의 신경모세포종 SK-N-SH 세포에 24시간 동안 처리한 결과 0.1~5 mg/mL까지 세포 독성이 나타나지 않았다(Fig. 3A). 따라서 계속되는 연구에서는 0.1~5 mg/mL 농도를 사용하였다.

CSB와 ASB를 500 μM H₂O₂ 동시에 처리했을 때 500 μM H₂O₂ 단독 처리군과 비교하여 0.1~1 mg/mL 농도에서

농도 의존적으로 세포 생존율이 증가하였으나 2 그리고 5 mg/mL CSB와 ASB 처리는 1 mg/mL CSB와 ASB 처리군과 유사하거나 오히려 낮은 세포 생존율을 나타내었다. 500 μM H₂O₂ 단독 처리군의 세포 생존율은 44.8%였으나, 500 μM H₂O₂와 1 mg/mL CSB 또는 ASB 처리에 의해 세포 생존율은 56.1%와 55.8% 증가하였다. 즉 1 mg/mL CSB 또는 ASB 처리에 의해 25.2%와 24.6% 세포 생존율이 증가하였다(Fig. 3B). 이와 같은 결과는 곤드레 빵과 참취 빵 섭취가 산화적 스트레스로부터 뇌신경세포를 보호할 수 있다는 것을 알 수 있었다. 또한 뇌질환 예방 및 개선 효과를 얻기 위해 많은 양의 곤드레 및 참취 빵 섭취보다는 적당량의 빵 섭취가 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

인간 신경세포 모델에서 산화적 스트레스에 대하여 세포생존율을 증가시키는 물질들을 찾고자 하는 연구들은

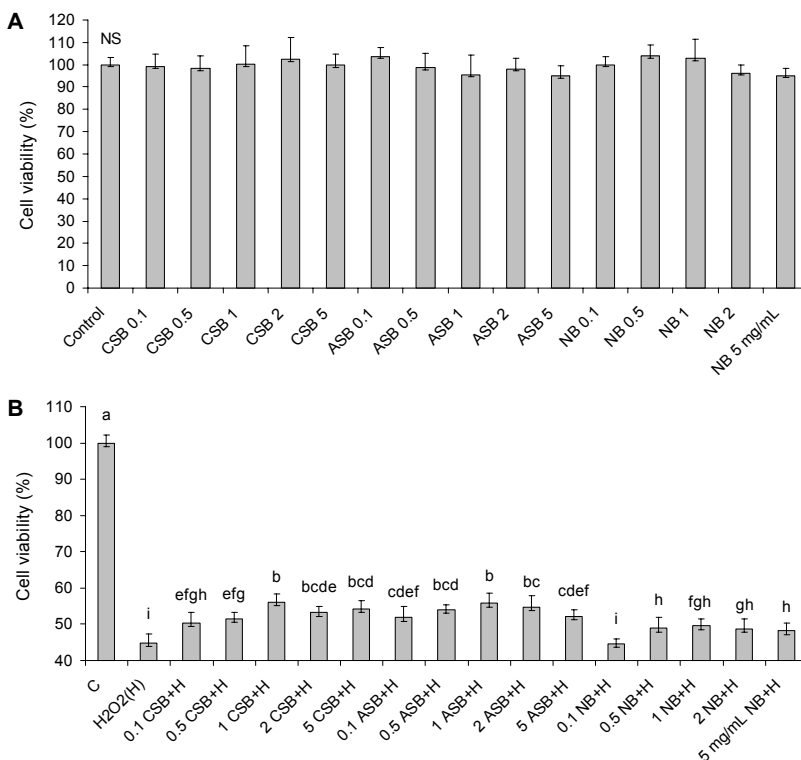


Fig. 3. Effect of cell viability of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CSB) or *Aster scaber* (ASB) (A) and the protective effect of bread containing CSB or ASB on H₂O₂-induced cell death of SK-N-SH cells (B). Control used bread without extract from *Cirsium setidens* or *Aster scaber* (NB). The results are expressed as the mean±SD (n=6~12). ^{a-i}Mean values with different letters above the bars are significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test. NS: not significantly (P<0.05) by Duncan's multiple range test.

알츠하이머병, 파킨슨병 등과 같은 뇌질환 예방 및 개선을 위한 건강기능성 식품 및 신약 개발을 위한 소재 발굴을 위한 연구의 일환으로 진행되어져 오고 있다(2,18).

Kang 등(19)은 인지기능 활성을 가진 생약복합물을 이용하여 빵을 제조하였으나 그 빵이 인지기능 활성을 그대로 가지고 있는지에 대한 연구는 하지 않았다. Lee 등(20)은 맥문동 물 추출물을 첨가한 바게트 빵을 당뇨유발 흰쥐에 섭취시킨 결과 혈당 개선 효과가 있다고 보고하였고, Kim과 Cho(21)는 흰쥐에게 실크펩티드 첨가 빵을 급여시켰을 때 혈청 콜레스테롤을 감소시키고 HDL-콜레스테롤을 증가시켜 지질 개선 효과가 있다고 보고하였다. 따라서 이들 연구들(20,21)은 질병 개선 효과를 가진 천연소재를 함유한 빵이 소재가 가진 기능성을 그대로 가지고 있다는 것을 보고하였다. 곤드레 및 참취 추출물들은 뇌질환 효과를 가지고 있었고(data not shown), 본 연구 결과 곤드레 및 참취 추출물을 함유한 빵이 참취와 곤드레가 가진 뇌질환 개선 기능성을 그대로 가지고 있었으므로 본 연구 결과는 Lee 등(20) 그리고 Kim과 Cho(21)의 연구 결과들과 유사한 경향을 나타내었다.

세포내 활성산소종(ROS) 소거능

본 연구에서 사람의 신경모세포종 SK-N-SH 세포에 500 μM H₂O₂를 처리하였을 때 생성된 활성산소종은 대조군(control: 100%)과 비교하여 약 312% 증가하였고, 0.1~1 mg/mL CSB와 ASB를 500 μM H₂O₂와 동시에 처리하였을 때 농도 의존적으로 세포내 활성산소종 수준이 감소하는 것을 확인하였으나 2 그리고 5 mg/mL CSB와 ASB 농도에서는 1 mg/mL CSB 또는 ASB 처리군과 유사한 ROS 소거 활성을 나타내었다. CSB와 ASB 1 mg/mL 처리했을 때 활성산소종이 각각 197%와 204%로 H₂O₂ 단독 처리에 비해 약 36.9%와 34.6% 감소하였다(Fig. 4). 따라서 H₂O₂ 처리에 의해 발생하는 세포내 활성산소종의 증가를 CSB와 ASB가 감소시키므로 곤드레 추출물이 함유된 곤드레 모닝빵과 참취 추출물이 함유된 참취 모닝빵 섭취는 뇌신경세포 보호 효과를 나타낼 것으로 사료되고 적당량의 섭취가 가장 효과적이라는 것을 알 수 있었다.

항산화 활성을 가진 천연 소재를 첨가한 빵들이 소재가 가지고 있는 항산화 효과를 그대로 가지고 있다고 보고된 많은 연구들(16,17)과 본 연구 결과는 유사한 경향을 나타내었다. Kim 등(2)은 김정콩 껍질에서 분리된 안토시아닌을 사람의 신경모세포종 SK-N-SH 세포에 처리하면 산화적 스트레스에 의해 생성되는 ROS 생성을 억제시켰고, 세포내 ROS 감소는 산화적 스트레스에 의한 뇌신경세포 사멸을 억제함으로써 뇌질환 개선 효과가 있을 것이라 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 CSB와 ASB 처리에 의해 산화적 스트레스를 억제함으로써 뇌신경세포를 보호하는 것으로 생각된다.

뇌신경세포 내 H₂O₂에 의해 유도된 p38 MAPK 단백질 활성화에 대한 곤드레 빵 추출물의 영향

곤드레 빵 추출물의 항산화 활성에 대한 분자생물학적 기전 연구를 위하여 산화적 스트레스 조건 하에 뇌신경세포 사멸과 관련하여 활성화되는 것으로 알려져 있는 p38의 인산화를 측정하였다(22).

SK-N-SH 세포에 500 μM H₂O₂ 처리에 의해 phospho-p38(p-p38) MAPK(mitogen-activated protein kinase)의 단백질 수준이 현저하게 증가하였고, 500 μM H₂O₂와 0.5, 1 또는 2 mg/mL CSB를 동시에 처리했을 때 500 μM H₂O₂의 단독 처리군과 비교하여 p-p38 MAPK 단백질 수준이 농도 의존적으로 현저하게 감소하였다(Fig. 5). 5 mg/mL CSB 처리는 산화적 스트레스에 의해 증가된 p-p38 MAPK 단백질 수준 억제 효과가 1 mg/mL CSB 처리군과 유사하였고, 0.5~5 mg/mL NB 처리는 p-p38 MAPK 단백질 수준 변화에 영향을 미치지 않았다(Fig. 5).

다양한 스트레스에 의해 세포 내부 생리학적 변화로 이어지기까지는 여러 단백질의 연쇄적인 상호작용이 필요하다. 이를 세포신호전달경로라고 하는데 p38이 속하는 MAPK 경로가 대표적이다(22). p38이 속해 있는 그룹인 MAPK 신호전달계는 산화적 스트레스에 의한 인산화연쇄반응에 의해 활성화되어 뇌신경세포를 사멸하므로 뇌질환 유발에 원인이 되는 것으로 알려져 있다(2,23,24). 따라서 p38 인산화에 의해 활성화되는 것을 막을 수 있다면 뇌신경세포 사멸을

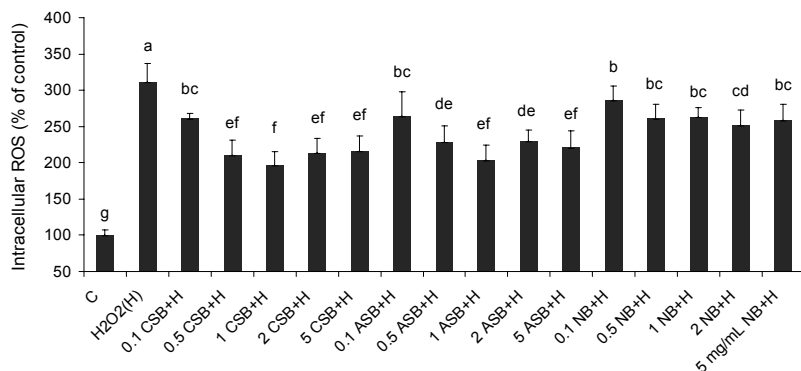


Fig. 4. The protective effect of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CSB) or *Aster scaber* (ASB) on H₂O₂-induced intracellular ROS formation in SK-N-SH cells. Control used bread without extract from *Cirsium setidens* or *Aster scaber* (NB). The results are expressed as the mean±SD (n=5). ^{a-g}Mean values with different letters above the bars are significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test.

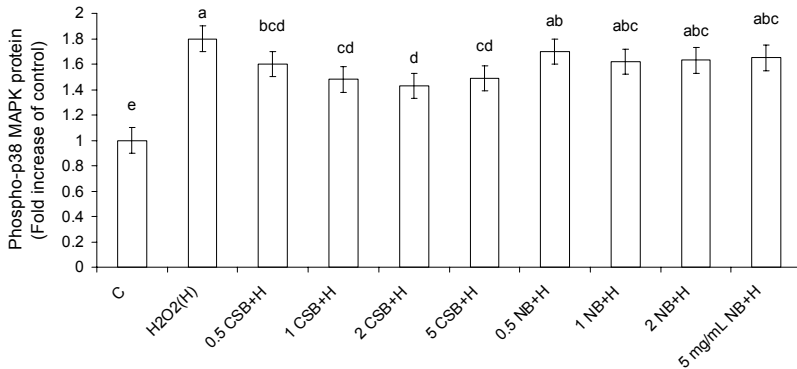


Fig. 5. Effect of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CSB) or *Aster scaber* (ASB) on H₂O₂-induced phosphorylation of p38 MAPK protein in SK-N-SH cells. The results are expressed as the mean±SD (n=5). ^{a-c}Mean values with different letters above the bars are significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test.

억제할 수 있을 것이다. Kim 등(2)은 안토시아닌이 산화적 스트레스에 의해 증가된 p-p38 MAPK 단백질 수준을 감소시키므로 뇌신경세포 사멸을 억제하였고 이는 안토시아닌이 뇌질환 예방 및 개선을 위해 사용할 수 있는 천연소재일 가능성을 제시한 과학적 결과라고 하였다. 본 연구에서도 곤드레 빵 섭취는 산화적 스트레스에 의해 증가된 p38의 인산화를 억제함으로써 뇌신경세포를 보호하여 뇌질환 예방 효과를 나타낼 것이라고 추정할 수 있었다.

관능검사

곤드레 모닝빵 및 참취 모닝빵의 관능검사 결과는 Table 2와 같다. 쓴맛은 CS 1% 또는 AS 1%를 함유한 빵이 이들 추출물들을 함유하지 않은 일반 모닝빵(CS 또는 AS 0%)보다 쓴맛은 높았고, CS 첨가한 빵과 AS 첨가한 빵과의 차이는 없었다. 산채향은 AS 함유 빵보다 CS 함유 빵이 더 강하였고, 뽀은맛은 AS 함유 빵이 CS 함유 빵보다 더 심했다. 이취는 CS 함유 빵과 이들 추출물을 함유하지 않은 빵이 통계학적으로 유의적 차이가 없었으나 AS 함유 빵은 CS

함유 빵보다 높았다. 외관, 색상, 향미 그리고 부드러움은 CS 함유 빵과 AS 함유 빵 간에 통계학적인 차이가 없었으나 추출물이 첨가되지 않은 빵보다 유의적으로 높은 점수가 나타났다. 종합적인 기호도는 추출물을 첨가하지 않은 빵보다 CS 함유 빵과 AS 함유 빵이 높은 점수를 얻었고, CS 함유 빵과 AS 함유 빵의 종합적인 기호도 점수는 비슷하였다.

요 약

본 연구는 H₂O₂에 의해 유도된 사람 뇌 신경모세포종 SK-N-SH의 사멸에 대항하여 곤드레 및 참취 추출물(CS와 AS)을 함유한 빵의 뇌신경세포 보호 작용에 대한 것이다. 곤드레 추출물을 함유한 곤드레 빵 추출물(CSB) 또는 참취 추출물을 함유한 참취 빵 추출물(ASB)을 SK-N-SH에 처리하면 H₂O₂에 의해 유발된 세포독성이 추출물 처리에 의해 감소되었고 세포 내 활성산소종과 p-p38 수준이 감소하였다. 관능 검사에서 CS를 함유한 곤드레빵, AS를 함유한 참취 빵 그리고 CS 또는 AS를 함유하지 않은 일반 빵을 비교한 결과, 외관, 색상, 향미, 부드러움 그리고 종합적인 기호도에 대해 CSB와 ASB는 NB보다 높은 점수를 받았으나 CSB와 ASB와는 차이가 없었다. 이 결과들은 뇌신경세포에서 항산화 효과와 p38 인산화 억제에 의해 산화적 스트레스에 대항하여 뇌신경 보호 효과를 나타내는 CSB와 ASB의 건강 유의성을 보여주었다. 따라서 CS와 AS는 건강 기능성 소재로 활용될 수 있을 것이다.

감사의 글

이 논문은 2013년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(No. NRF-2013R1A1A4A01013550)이다.

REFERENCES

1. Smith MA, Richey Harris PL, Sayre LM, Beckman JS, Perry G. 1997. Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 17: 2653-2657.

Table 2. Sensory evaluation of bread containing extract from *Cirsium setidens* (CS) or *Aster scaber* (AS)

	Bread containing extract from CS or AS		
	CS 1%	AS 1%	CS or AS 0%
Bitterness	1.8±0.2 ^{b1)}	1.8±0.2 ^b	1.5±0.1 ^a
Wild vegetable flavor	3.7±0.5 ^c	3.2±0.5 ^b	1.1±0.1 ^a
Astringency	1.7±0.1 ^b	1.9±0.2 ^c	1.5±0.1 ^a
Off-flavor	1.8±0.2 ^a	2.0±0.3 ^b	1.7±0.1 ^a
The above items: score 1 (none)~5 (extreme)			
Appearance	3.9±0.5 ^b	3.9±0.6 ^b	3.5±0.5 ^a
Color	4.1±0.6 ^b	4.1±0.7 ^b	3.5±0.5 ^a
Flavor	3.8±0.5 ^b	3.6±0.5 ^b	3.0±0.4 ^a
Softness	3.8±0.5 ^b	3.8±0.5 ^b	3.2±0.4 ^a
Overall acceptability	4.1±0.6 ^b	4.0±0.6 ^b	3.1±0.4 ^a
The above items: score 1 (very dislike)~5 (very like)			

Values are mean±standard deviation (n=50).

¹⁾Means with different superscripts in the same row are significantly different (P<0.05) according to Duncan's multiple range test.

2. Kim SM, Chung MJ, Ha TJ, Choi HN, Jang SJ, Kim SO, Chun MH, Do SI, Choo YK, Park YI. 2012. Neuroprotective effects of black soybean anthocyanins via inactivation of ASK1-KJNK/p38 pathways and mobilization of cellular sialic acids. *Life Sci* 90: 874-882.
3. Olney JW, Rhee V, Ho OL. 1974. Kainic acid: a powerful neurotoxic analogue of glutamate. *Brain Res* 77: 507-512.
4. Clemens JA. 2000. Cerebral ischemia: gene activation, neuronal injury, and the protective role of antioxidants. *Free Radic Biol Med* 28: 1526-1531.
5. Ebadi M, Srinivasan SK, Baxi MD. 1996. Oxidative stress and antioxidant therapy in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 48: 1-19.
6. Kim TJ. 1996. *Korea resources plants*. IV. Seoul National University Press, Seoul, Korea. p 230.
7. Ham SS, Hwangbo HJ, Cui CB, Lee EY, Cho MA, Lee DS. 2001. Suppressive effects of ethanol extract of *Aster scaber* root on genotoxicity. *J East Asian Soc Dietary Life* 11: 446-471.
8. Kim JH, Kim MK. 1999. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of *Perilla frutescens*, *Artemisia princeps* var. *orientalis* and *Aster scaber* on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32: 540-551.
9. Lim SS, Lee JH. 1997. Effect of *Aster scaber* and *Ixeris dentata* on contractility and vasodilation of cardiovascular and endothelial cell in hyperlipidemic rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 300-307.
10. Park JR, Park JC, Choi SH. 1997. Screening and characterization of anticholesterogenic substances from edible plant extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 236-241.
11. Ishida H, Umino T, Tsuji K, Kosuge T. 1987. Studies on antihemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in Chinese medicine. VII. On the antihemorrhagic principle in *Cirsium japonicum* DC. *Chem Pharm Bull* 35: 861-864.
12. Lim SS, Lee JH, Park JC. 1997. Isolation of flavone glycoside from *Cirsium japonicum* var *ussuriense* and biological activity on the cardiovascular system. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 242-247.
13. Chung MJ, Sohng JK, Choi DJ, Park YI. 2013. Inhibitory effect of phloretin and biochanin A on IgE-mediated allergic responses in rat basophilic leukemia RBL-2H3 cells. *Life Sci* 93: 401-408.
14. Chung MJ, Kim SH, Park JW, Lee YJ, Ham SS. 2012. *Platycodon grandiflorum* root attenuates vascular endothelial cell injury by oxidized low-density lipoprotein and prevents high-fat diet induced dyslipidemia in mice by up-regulating antioxidant proteins. *Nutr Res* 32: 365-373.
15. Jeon SM, Lee JY, Kim HW, Lee YM, Jang HH, Hwang KA, Kim HR, Park DS. 2012. Antioxidant activity of extracts and fractions from *Aster scaber*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1197-1204.
16. Yoon HS, Kim JW, Kim SH, Kim YG, Eom HJ. 2014. Quality characteristics of bread added with *Aronia* powder (*Aronia melanocarpa*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 273-280.
17. Yoon MH, Jo JE, Kim DM, Kim KH, Yook HS. 2010. Quality characteristics of bread containing various levels of flowering cherry (*Prunus serrulata* L. var. *spontanea* Max. wils.) fruit power. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1340-1345.
18. Xiao Z, Huang C, Wu J, Sun L, Hao W, Leung LK, Huang J. 2013. The neuroprotective effects of ipriflavone against H₂O₂ and amyloid beta induced toxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *Eur J Pharmacol* 721: 286-293.
19. Kang JS, Kang SK, Kim HS. 2009. Preparation and characteristics of bread by medical herb composites with cognitive function. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1131-1138.
20. Lee YK, Lee MY, Kim SD. 2004. Quality characteristics and dietary effect of baguette bread added with water extracts of *Liriopsis* tuber on the blood glucose and serum cholesterol in diabetes induced rats. *J East Asian Soc Dietary Life* 14: 275-282.
21. Kim YH, Cho NJ. 2007. Effect of bread added with silk-peptide and cholesterol on lipid metabolism of rat. *J East Asian Soc Dietary Life* 17: 198-204.
22. Matsukawa J, Matsuzawa A, Takeda K, Ichijo H. 2004. The ASK1-MAP kinase cascades in mammalian stress response. *J Biochem* 136: 261-265.
23. Rincon M, Flavell RA, Davis RA. 2000. The JNK and p38 MAP kinase signaling pathways in T cell-mediated immune responses. *Free Radic Biol Med* 28: 1328-1337.
24. Chang L, Karin M. 2001. Mammalian MAP kinase signaling cascades. *Nature* 410: 137-140.