

강황 열수 추출물의 항산화 활성 및 C2C12 Myoblasts의 산화적 손상에 대한 보호 효과

— 연구노트 —

정혜진¹ · 김신태¹ · 박정진^{1,2} · 김기흥³ · 김경미⁴ · 전우진^{1,2}

¹전남대학교 식품영양과학부, ²전남대학교 생활과학연구소
³(재)전남지역사업평가단, ⁴한국폴리텍대학 바이오식품분석학과

Antioxidant Activities and Protective Effects of Hot Water Extract from *Curcuma longa* L. on Oxidative Stress-Induced C2C12 Myoblasts

Hye-Jin Jeong¹, Shintae Kim¹, Jeongjin Park^{1,2}, Ki Hong Kim³, Kyungmi Kim⁴, and Woojin Jun^{1,2}

¹Division of Food and Nutrition and ²Research Institute for Human Ecology, Chonnam National University

³Jeonnam Institute for Regional Program Evaluation

⁴Department of Biofood Analysis, Korea Polytechnic Colleges

ABSTRACT The aim of this study was to investigate the antioxidant activities and protective effects of hot water extract from *Curcuma longa* L. (CLW) on oxidative stress-induced C2C12 myoblasts. Antioxidant activities of CLW were evaluated based on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activities. Protective effects of CLW on oxidative stress-induced C2C12 myoblasts were determined based on cytotoxicity, H₂O₂ protective activity, and intracellular reactive oxygen species (ROS) level. DPPH and ABTS radical scavenging activities represented by SC₅₀ were 188.5±3.0 µg/mL and 92.0±0.9 µg/mL, respectively. Using C2C12 myoblasts, CLW treatment increased cell viability against oxidative stress-induced cell death. Further, CLW treatment reduced the intracellular ROS level in cells treated with H₂O₂. These results suggest that CLW might have the capability to protect oxidative stress-induced C2C12 myoblasts.

Key words: *Curcuma longa* L., radical scavenging activity, C2C12, oxidative stress, protective effect

서론

활성산소는 우리 몸의 내·외적 요인으로부터 생성되며 자외선, 과식, 음주와 흡연, 과도한 스트레스, 지나친 운동, 전자파 등으로 인해 생성량이 급격히 증가할 수 있다(1). 또한, 나이가 들어감에 따라 활성산소를 제거하는 능력이 감소하여 활성산소의 생성과 제거의 균형, 즉 우리 몸의 항상성이 깨져 체내에 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성되게 된다(2). ROS의 생성은 지질, 단백질, DNA 및 기타 고분자들을 포함한 세포의 구성성분들에 비가역적인 손상을 야기하며, 이는 세포의 자가 사멸과 밀접하게 연관되어 있다(3). 따라서 과도하게 생성된 ROS에 의해 노화, 암, 심혈관계 및 염증성, 신경퇴행성 등의 다양한 질환의 발병(3-5)뿐만 아니라 골격근에서 구조적 손상 및 염증반응을 일으켜 근육조직의 피로 및 손상을 야기하는 것으로 알려져 있다. 이에 체내 산화적 스트레스를 감소시키는 천연물 유래

기능성 식품을 개발하기 위해 다양한 세포 모델을 이용한 연구가 시도되고 있다.

마우스에서 유래한 근육세포인 C2C12 myoblast는 근육으로 분화되기 전단계의 단핵으로 이루어진 세포로, 세포 내 다양한 전사인자 등에 의해 다핵의 근관세포로 분화되어 근육을 형성하는 것으로 알려져 있으며 근육세포의 증식이나 분화에 관련한 연구의 주요한 세포 모델로 사용되고 있다(6). 특히 산화적 스트레스가 근육조직에 미치는 영향에 대한 연구는 주로 골격근 세포를 이용하여 이루어지고 있으며(7-9), 최근 연구에 의하면 과도한 ROS는 세포의 자가소화 작용 및 세포자멸을 촉진하여 근육세포의 손상으로 인한 근 위축에 영향을 미친다고 알려져 있다(10).

강황(*Curcuma longa* L.)은 생강과에 속하는 다년생 초본으로 인도 및 중국 등 아시아의 열대 지방에서 주로 재배되며 2000년 초반 이후 우리나라의 전남 진도에서 재배되고 있는 작물로, 카레 및 식품의 향신료, 기침이나 통증 등의 약제, 또는 의류 염색제로도 이용되어 왔다(11,12). 강황의 주요 활성물질은 curcumin, demethoxycurcumin 및 bis-demethoxycureumin 등이 있으며, 생리활성으로는 항산화, 항염, 항암, 항비만 및 간 보호 효과 등이 알려져 있다

Received 10 August 2017; Accepted 12 September 2017

Corresponding author: Woojin Jun, Division of Food and Nutrition, Chonnam National University, Gwangju 61186, Korea
E-mail: wjjun@jnu.ac.kr, Phone: +82-62-530-1337

(12-15). 강황을 이용한 다양한 효능 연구가 진행되어 왔으나, 근육세포 내 산화적 스트레스를 감소시키는 국내 연구는 전무한 실정이다. 또한, 강황의 건강기능식품 소재화를 위한 관심도가 점차 증가하고 있는 시점에서 강황에 대한 연구는 향후 건강기능식품 소재화를 위한 기초자료로써 매우 중요하며, 이에 대한 연구가 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 강황 열수 추출물의 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량, 라디칼 소거능을 측정하고, 근육세포주로 잘 알려진 C2C12 myoblast를 이용하여 강황 열수 추출물을 처리한 후 H₂O₂로 산화적 스트레스를 유도하여 세포의 증식 과정 단계에서 근육세포 보호 효과를 통한 산화적 손상 억제 효능을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

본 실험에서 사용된 시료는 전남 진도군에서 재배된 강황을 구입한 후 추출, 농축 및 건조 과정을 거쳐 제조한 강황 열수 추출물 상태로 농업회사법인(주)산들촌(Damyang, Korea)에서 제공받았다. 강황 열수 추출물은 -20°C에 보관하여 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용된 Folin-Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, catechin hydrate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), potassium persulfate, XTT sodium salt, phenazine methosulfate (PMS) 및 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA)는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin(P/S), phosphate-buffered saline(PBS) 및 trypsin-EDTA는 HyClone사(Logan, UT, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 페놀성 화합물 함량은 Folin-Ciocalteu's의 방법을 변형하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 각 시료의 페놀성 화합물에 의해 환원된 결과, 몰리브덴 청색으로 발색하는 원리를 이용하여 측정하였다(16). 1,000 µg/mL 농도의 강황 열수 추출물 1 mL에 증류수 9 mL를 넣은 후 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 혼합하여 5분간 실온에 방치하였다. 그 후 7% Na₂CO₃ 1 mL를 분주한 다음 증류수 4 mL를 넣어 잘 혼합하여 90분 동안 실온에 방치한 후 분광광도계(Optizen pop, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀성 화합물 함량은 gallic acid를 이용하여 강황 열수 추출물 100 g당 mg gallic acid equivalent로 계산하여 나타냈다. 총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(17)의 방법을 이용하여 비색정량하였다. 1,000 µg/mL 농도의 강황 열수 추

출물 1 mL에 증류수 4 mL와 5% NaNO₂ 0.3 mL를 넣어 잘 혼합하여 5분간 실온에 방치하였다. 그 후 10% AlCl₃ 0.3 mL를 첨가한 다음 1 M NaOH 2 mL와 증류수 2.4 mL를 분주하여 잘 혼합한 후 분광광도계(Optizen pop, Mecasys Co., Ltd.)를 이용하여 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 함량은 catechin hydrate를 이용하여 강황 열수 추출물 100 g당 mg catechin hydrate equivalent로 계산하여 나타냈다.

DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 측정

자유기(free radical)에 대한 강황 열수 추출물의 라디칼 소거 활성을 확인하기 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 Blois(18)의 방법을 변형하여 측정하였다. 96-well plate에 에탄올에 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액 380 µL와 시료 20 µL를 첨가하여 암소에서 30분 동안 방치한 후 microplate reader(Synergy HT, BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거능은 Re 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate 용액을 제조하여 섞은 후, 암소에 하루 동안 방치하여 양이온 라디칼을 형성시킨 다음 734 nm에서 흡광도의 값이 1.0에 가깝도록 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 390 µL에 시료 10 µL를 첨가한 후 microplate reader(Synergy HT, BioTek Instruments Inc.)를 이용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 scavenging activity(%) = [(Abs_{control} - Abs_{sample})/Abs_{control}] × 100 계산식을 이용하였으며, 결과값은 라디칼을 50% 소거하는 데 필요한 강황 열수 추출물의 양을 계산하여 SC₅₀ 값으로 나타냈다.

C2C12 세포 배양

본 실험에 사용된 마우스 유래 C2C12 세포주는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다. ATCC에서 구입한 골격근 세포는 10% FBS 및 1% P/S를 함유한 DMEM에서 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 배양하였으며, 세포가 80~90% 자랐을 때 계대배양을 진행하였다.

강황 열수 추출물의 세포 독성 측정

강황 열수 추출물의 세포 독성은 XTT 방법을 이용하여 측정하였다. C2C12 myoblast를 24-well plate에 1×10⁵ cells/mL로 분주하여 24시간 배양한 후 serum free DMEM에 강황 열수 추출물 100, 250, 500, 750 및 1,000 µg/mL 농도로 24시간 처리하였다. 그 후 PBS로 씻어준 다음 각 well에 PBS 1 mL씩 분주하고 XTT 및 PMS reagent 250 µL씩 첨가하여 가볍게 흔들어 혼합하였다. 2시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 배양한 후 microplate reader(Synergy HT, BioTek Instruments Inc.)를 이용하

여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

강황 열수 추출물의 H₂O₂에 대한 보호 효과 측정

강황 열수 추출물의 H₂O₂에 대한 보호 효과는 XTT 방법을 이용하여 측정하였다. C2C12 myoblast를 24-well plate에 1×10⁵ cells/mL로 분주하여 24시간 배양한 후 serum free DMEM에 강황 열수 추출물 100, 200, 300 및 500 µg/mL 농도로 24시간 처리하였다. 24시간 후에 PBS로 씻어주고 1 mM H₂O₂를 1시간 동안 처리하였다. 그 후 PBS로 씻어주고 각 well에 PBS 1 mL씩 분주하고 XTT 및 PMS reagent를 250 µL씩 첨가하여 가볍게 흔들어 혼합하였다. 2시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 배양한 후 microplate reader(Synergy HT, BioTek Instruments Inc.)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 내 활성산소종 수준 측정

세포 내 ROS 수준은 DCF-DA 방법을 이용하여 측정하였다. C2C12 myoblast를 24-well plate에 1×10⁵ cells/mL로 분주하여 24시간 배양한 후 serum free DMEM에 강황 열수 추출물 100, 200, 300 및 500 µg/mL 농도로 24시간 처리하였다. 24시간 후에 PBS로 씻어주고 0.25 mM H₂O₂를 1시간 동안 처리하였다. 그 후 PBS로 씻어주고 각 well에 10 µM DCF-DA 1 mL씩 분주하여 30분 동안 37°C, 5% CO₂ 조건의 incubator에서 배양하였다. 30분 후 PBS로 씻어주고, 각 well에 PBS 1 mL씩 분주한 다음 microplate reader(Synergy HT, BioTek Instruments Inc.)를 이용하여 excitation 485/20, emission 528/20에서 형광도를 측정하였다.

통계분석

실험 결과는 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타냈으며, 각 군 간의 결과 비교 및 유의성 검정은 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계처리한 후 P<0.05 수준에서 유의 수준을 검정하였다.

결과 및 고찰

강황 열수 추출물의 총 페놀성 화합물 함량, 총 플라보노이드 함량 및 라디칼 소거능

식물체에는 다양한 페놀성 화합물 및 플라보노이드 물질과 같은 항산화 물질들이 존재한다. 페놀성 화합물은 하나

또는 여러 개의 OH기를 가지고 있는 탄소 수 6개의 방향족 고리를 1개 이상 가진 화합물을 의미한다(20). 플라보노이드는 C3-C6-C3 구조를 갖는 페놀성 화합물에 포함되는 그룹으로서 ROS를 환원시켜 산화적 스트레스를 억제하는 역할을 한다(21). 강황 열수 추출물의 총 페놀성 화합물 및 총 플라보노이드 함량 측정 결과, 각각 2,474.4±31.9 mg GAE/100 g 및 892.1±21.2 mg CE/100 g으로 나타났다(Table 1). 이는 다양한 천연물 유래의 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량을 측정하였을 때 서양민들레 지하부 열수 추출물의 물 분획물에서의 총 페놀성 화합물 함량이 11.01±0.22 mg GAE/g으로 나타난 결과(22), 삼채뿌리 물 추출물에서 총 페놀성 화합물 함량이 6±0.2 mg GAE/g으로 나타난 결과(23) 및 산국대 추출물의 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량이 각각 4.41±0.04 mg GAE/g 및 4.75±0.03 mg CE/g으로 나타난 결과(24)와 유사한 것을 확인할 수 있었다.

강황 열수 추출물의 라디칼 소거 활성을 확인하기 위해 DPPH 및 ABTS 라디칼을 이용하여 라디칼 소거능을 측정하였다. DPPH 방법은 보라색을 띠는 DPPH 라디칼이 항산화 물질에 의해 환원되어 노란색으로 변화되는 반응을 이용한 방법이다. ABTS 방법은 ABTS와 potassium persulfate의 반응으로 인하여 생성된 청록색의 ABTS 라디칼이 항산화 물질에 의해 소거되어 청록색이 탈색되는 반응을 이용한 방법이다. DPPH 및 ABTS 방법은 항산화능을 측정하는 데 가장 보편적으로 사용하는 방법이다. 강황 열수 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 SC₅₀ 값으로 계산하였을 때 각각 188.5±3.0 µg/mL 및 92.0±0.9 µg/mL로 나타났다(Table 1). 이는 천연물에서 유래한 서양민들레 지하부 열수 추출물의 물 분획물에서 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과 SC₅₀ 값이 587.88±3.13 µg/mL로 나타난 결과(22) 및 사철쭉 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능 측정 결과 SC₅₀ 값이 251.48±14.00 µg/mL로 나타난 결과(25)와 유사한 것을 확인할 수 있다. 위의 결과들로 보아 강황 열수 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량과 상관성이 있을 것으로 생각된다.

강황 열수 추출물의 세포 독성

강황 열수 추출물의 세포 독성을 측정하기 위해 XTT 방법을 이용하였으며, 세포생존율은 Fig. 1에 나타냈다. 강황 열수 추출물을 각각 100, 250, 500, 750 및 1,000 µg/mL 농도로 처리하였을 때 1,000 µg/mL 농도까지 세포생존율에 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 따라서 강황 열수 추

Table 1. Levels of phenolic compounds, flavonoids, and radical scavenging activities of hot water extract from *Curcuma longa* L.

Extract	Phenolic compounds (mg GAE ²⁾ /100 g)	Flavonoids (mg CE ³⁾ /100 g)	DPPH radical SC ₅₀ ⁴⁾ (µg/mL)	ABTS radical SC ₅₀ (µg/mL)
CLW ¹⁾	2,474.4±31.9 ⁵⁾	892.1±21.2	188.5±3.0	92.0±0.9

¹⁾CLW: hot water extract from *Curcuma longa* L.. ²⁾GAE: gallic acid equivalent. ³⁾CE: catechin hydrate equivalent.

⁴⁾SC₅₀: concentration required for 50% scavenging of radicals. ⁵⁾Data express the mean±SD.

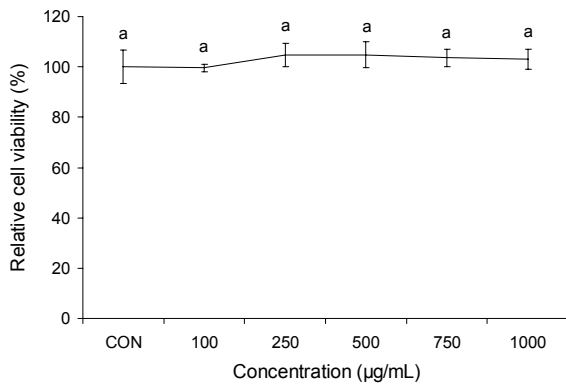


Fig. 1. Cytotoxicity of hot water extract from *Curcuma longa* L. cell viability was measured by XTT assay. Data express the mean±SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CON: normal control, CLW treatment: 100, 250, 500, 750, and 1,000 µg/mL hot water extract from *Curcuma longa* L., respectively.

출물을 C2C12 myoblast에 처리하였을 때 1,000 µg/mL 농도까지는 세포 독성을 나타내지 않는 것으로 판단되며, 안전성이 확인된 범위 이내의 농도를 H₂O₂ 보호 효과 및 세포 내 ROS 수준 측정 실험에서 사용하였다.

강황 열수 추출물의 H₂O₂에 대한 보호 효과

강황 열수 추출물의 H₂O₂에 대한 보호 효과를 측정하기 위해 XTT 방법을 이용하였으며, 세포생존율은 Fig. 2에 나타났다. 세포 내에 과도한 산화적 스트레스가 유발되면 결과적으로 세포 사멸이 이루어져 생존율이 감소하게 된다. 실험 결과, H₂O₂ 처리군에서는 세포생존율이 60.2±2.4%로 가장 낮았으며, 강황 열수 추출물을 100, 200, 300 및 500 µg/mL 농도로 처리하였을 때 세포생존율이 각각 72.1±1.7,

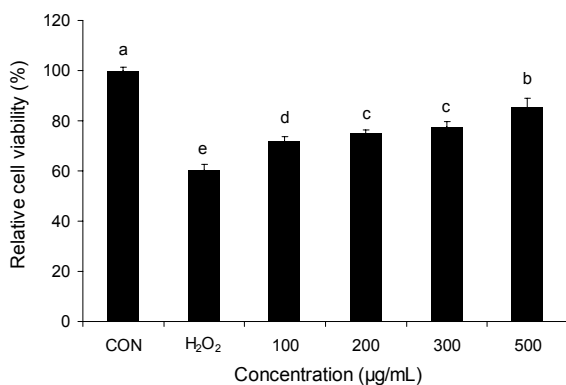


Fig. 2. Effect of hot water extract from *Curcuma longa* L. on H₂O₂-induced oxidative stress. Cell viability was measured by XTT assay. Data express the mean±SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CON: normal control, H₂O₂: 1 mM H₂O₂ treatment, CLW treatment: 1 mM H₂O₂ treatment with 100, 200, 300, and 500 µg/mL hot water extract from *Curcuma longa* L., respectively.

74.9±1.5, 77.6±2.1 및 85.3±3.6%로 농도 의존적으로 증가하였다. 이는 이미 보고된 C2C12 세포에 lignan compounds를 처리하였을 때 200 µM H₂O₂ 처리에 의한 세포 사멸 정도가 감소한 연구 결과(26) 및 Schisandrae semen essential oil을 처리하였을 때 1 mM H₂O₂ 처리에 의한 세포 사멸 정도가 감소한 연구 결과(27)와 유사하였다. 따라서 강황 열수 추출물이 H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스에 의한 세포 사멸에 대해 보호 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

세포 내 활성산소종 수준

세포 내 ROS 수준을 측정하기 위해 DCF-DA 방법을 이용하였으며, 형광도는 Fig. 3에 나타났다. DCF-DA 방법은 형광을 나타내지 않는 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH)이 산화되면 형광을 나타내는 2',7'-dichlorofluorescein(DCF)으로 변하는 반응을 이용한 방법이다(28). 이는 H₂O₂ 생성에 대한 특정 지표로 이용되고 있으며, DCFH가 H₂O₂ 뿐만 아니라 HO· 및 ROO·에 의해서도 DCF로 산화될 수 있기 때문에 세포 내 ROS 수준을 측정하는 방법으로 널리 사용되고 있다(29).

형광도를 측정한 결과 control군의 형광도를 100%로 하였을 때 H₂O₂ 처리군에서 139.2±5.3%로 형광도가 유의적으로 높았으며, 강황 열수 추출물 100, 200, 300 및 500 µg/mL 농도로 처리하였을 때 형광도가 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 특히 강황 열수 추출물 500 µg/mL 농도로 처리하였을 때 형광도가 104.3±3.7%로 control군과 유의적인 차이가 없을 정도로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 따라서 강황 열수 추출물 처리로 인해 H₂O₂로 유도된 C2C12 myoblast 내 ROS가 농도 의존적으로 감소한 것을 확인할 수 있었으며, 이를 통해 강황 열수 추출물이 산화적 스트레스로 인해 세포 내 생성되는 ROS를 감소시킬

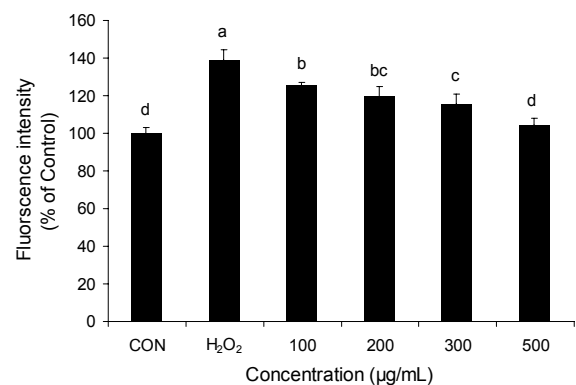


Fig. 3. Effect of hot water extract from *Curcuma longa* L. on intracellular ROS level. Intracellular ROS level was measured by DCF-DA assay. Data express the mean±SD. Bars with different letters indicate statistically significant differences by Duncan's multiple range test ($P<0.05$). CON: normal control, H₂O₂: 0.25 mM H₂O₂ treatment, CLW treatment: 0.25 mM H₂O₂ treatment with 100, 200, 300, and 500 µg/mL hot water extract from *Curcuma longa* L., respectively.

수 있을 것으로 생각된다.

요 약

본 연구에서는 강황 열수 추출물의 항산화 활성 및 산화적 스트레스에 대한 보호 효과를 확인하고자 하였다. 항산화 활성을 확인하기 위해 총 페놀성 화합물 함량, 총 플라보노이드 함량 및 라디칼 소거능을 측정하였다. 강황 열수 추출물의 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드 함량은 각각 2,474.4 ± 31.9 mg GAE/100 g 및 892.1 ± 21.2 mg CE/100 g으로 나타났다. 강황 열수 추출물의 라디칼 소거능은 DPPH 및 ABTS 라디칼을 이용하여 측정하였다. 실험 결과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능을 SC₅₀ 값으로 계산하였을 때 각각 188.5 ± 3.0 µg/mL 및 92.0 ± 0.9 µg/mL로 나타났다. 이러한 라디칼 소거능에는 강황 열수 추출물에 함유되어 있는 총 페놀성 화합물 및 플라보노이드가 영향을 미쳤을 것이라고 판단된다. C2C12 myoblast에 강황 열수 추출물을 처리하였을 때 1,000 µg/mL 농도까지 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였으며, 안전성이 확인된 500 µg/mL 농도까지 실험을 진행하였다. 강황 열수 추출물의 H₂O₂에 대한 보호 효과를 측정할 결과 강황 열수 추출물을 처리하였을 때 농도 의존적으로 보호 효과가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 또한, H₂O₂ 처리 후 DCF-DA 방법을 이용하여 세포 내 활성 산소종(ROS) 수준을 측정할 결과 강황 열수 추출물을 처리하였을 때 세포 내 ROS 수준이 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 이상의 결과로부터 강황 열수 추출물은 항산화 활성을 나타냈으며, C2C12 myoblast에 H₂O₂로 유도된 산화적 스트레스를 감소시키는 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 경제협력권산업육성사업으로 수행된 연구 결과입니다 (R0004859).

REFERENCES

- Han MH, Park C, Lee DS, Hong SH, Choi IW, Kim GY, Choi SH, Shim JH, Chae JI, Yoo YH, Choi YH. 2017. Cytoprotective effects of esculetin against oxidative stress are associated with the upregulation of Nrf2-mediated NQO1 expression via the activation of the ERK pathway. *Int J Mol Med* 39: 380-386.
- Terrill JR, Radley-Crabb HG, Iwasaki T, Lemckert FA, Arthur PG, Grounds MD. 2013. Oxidative stress and pathology in muscular dystrophies: focus on protein thiol oxidation and dysferlinopathies. *FEBS J* 280: 4149-4164.
- Filomeni G, De Zio D, Cecconi F. 2015. Oxidative stress and autophagy: the clash between damage and metabolic needs. *Cell Death Differ* 22: 377-388.
- Dai DF, Chiao YA, Marcinek DJ, Szeto HH, Rabinovitch PS. 2014. Mitochondrial oxidative stress in aging and healthspan. *Longev Healthspan* 3: 6.
- Yoon BR, Kim YH, Lee JS, Hong HD, Rhee YK, Cho CW, Kim YC, Lee OH. 2013. Protective effect of ferments of hot-water extract mixture from *Rhodiola sachalinensis* and red ginseng on oxidative stress-induced C2C12 myoblast. *Korean J Food Nutr* 26: 485-491.
- Sabourin LA, Rudnicki MA. 2000. The molecular regulation of myogenesis. *Clin Genet* 57: 16-25.
- Fan X, Hussien R, Brooks GA. 2010. H₂O₂-induced mitochondrial fragmentation in C2C12 myocytes. *Free Radic Biol Med* 49: 1646-1654.
- Kerasiotti E, Stagos D, Priftis A, Aivazidis S, Tsatsakis AM, Hayes AW, Kouretas D. 2014. Antioxidant effects of whey protein on muscle C2C12 cells. *Food Chem* 155: 271-278.
- Goutzourelas N, Stagos D, Spanidis Y, Liosi M, Apostolou A, Priftis A, Haroutounian S, Spandidos DA, Tsatsakis AM, Kouretas D. 2015. Polyphenolic composition of grape stem extracts affects antioxidant activity in endothelial and muscle cells. *Mol Med Rep* 12: 5846-5856.
- Meng SJ, Yu LJ. 2010. Oxidative stress, molecular inflammation and sarcopenia. *Int J Mol Sci* 11: 1509-1526.
- Ammon HP, Wahl MA. 1991. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med* 57: 1-7.
- Araújo CC, Leon LL. 2001. Biological activities of *Curcuma longa* L.. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 723-728.
- Kim Y, You Y, Yoon HG, Lee YH, Kim K, Lee J, Kim MS, Kim JC, Jun W. 2014. Hepatoprotective effects of fermented *Curcuma longa* L. on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Food Chem* 151: 148-153.
- Kim JH, Kim OK, Yoon HG, Park J, You Y, Kim K, Lee YH, Choi KC, Lee J, Jun W. 2016. Anti-obesity effect of extract from fermented *Curcuma longa* L. through regulation of adipogenesis and lipolysis pathway in high-fat diet-induced obese rats. *Food Nutr Res* 60: 30428.
- Perrone D, Ardito F, Giannatempo G, Dioguardi M, Troiano G, Lo Russo L, DE Lillo A, Laino L, Lo Muzio L. 2015. Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin. *Exp Ther Med* 10: 1615-1623.
- Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H. 2002. Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicology* 177: 67-80.
- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13: 572-584.
- Min KC, Jhoo JW. 2013. Antioxidant activity and inhibitory effect of *Taraxacum officinale* extracts on nitric oxide production. *Korean J Food Sci Technol* 45: 206-212.
- Lee KW, Kim YS, Park PJ, Jeong JH. 2014. Comparison

- of effect of water and ethanolic extract from roots and leaves of *Allium hookeri*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1808-1816.
24. Kim YS, Hwang JW, Park PJ, Jeong JH. 2014. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Chrysanthemum boreale* on *t*-BHP induced oxidative stress in Chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 60-66.
25. Seo JE, Hwang ES, Kim GH. 2011. Antioxidative and differentiation effects of *Artemisia capillaris* T. extract on hydrogen peroxide-induced oxidative damage of MC3T3-E1 osteoblast cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1532-1536.
26. Yoshikawa A, Saito Y, Maruyama K. 2006. Lignan compounds and 4,4'-dihydroxybiphenyl protect C2C12 cells against damage from oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun* 344: 394-399.
27. Kang JS, Han MH, Kim GY, Kim CM, Chung HY, Hwang HJ, Kim BW, Choi YH. 2015. Schisandrae semen essential oil attenuates oxidative stress-induced cell damage in C2C12 murine skeletal muscle cells through Nrf2-mediated upregulation of HO-1. *Int J Mol Med* 35: 453-459.
28. Keston AS, Brandt R. 1965. The fluorometric analysis of ultramicro quantities of hydrogen peroxide. *Anal Biochem* 11: 1-5.
29. Gomes A, Fernandes E, Lima JL. 2005. Fluorescence probes used for detection of reactive oxygen species. *J Biochem Biophys Methods* 65: 45-80.