

CPAE 세포를 이용한 Kaempferol과 Quercetin의 산화스트레스 극복효과

박신영*

제주한라대학 임상병리학과

Protective Effects of Kaempferol and Quercetin on Oxidative Stress in CPAE Cell

Shin-Young Park*

Dept. of Clinical Pathology, Cheju Halla College, Jeju City 690-708, Korea

Abstract - Flavonoids are ubiquitous substances in fruits and vegetables. A main subgroup of the flavonoids are the flavonols, of which quercetin and kaempferol are the major representatives in foods. They are used in food supplements at high doses, because of their preventive effects on degenerative diseases. The aim of this study was to determine the combined and separate effects of kaempferol and quercetin on oxidative stress in cow pulmonary artery endothelium (CPAE) cells over a broad concentration range. The results demonstrate that cell viability was greatly increased in kaempferol and quercetin treated cells whether H₂O₂-treated or not. Cell viability also increased when treated with flavonols in the absence of oxidative stress. Both preincubation and simultaneous incubation with kaempferol and quercetin protected against the loss of cell viability induced by 1mM H₂O₂(5h). Protective effects of flavonols against oxidative stress were shown to depend on the treated flavonol concentrations. No protective effect was shown under low concentration treatment and cell viability increased 1.6 times at 200 μM relative to the control group. At the highest flavonol concentration of 300 μM, the increased cell viability by flavonol treatment was decreased to almost half of the maximum values. Combined treatments with kaempferol and quercetin showed more protective effects against oxidative stress by H₂O₂ than the separate effects of each flavonol. In conclusion, the protective effect of kaempferol and quercetin against oxidative stress was very pronounced but high concentrations of flavonols can also induce cell cytotoxicity.

Key words - Flavonoid, Flavonol, Cell viability, Antioxidant, CPAE cell

서 언

산업이나 의학의 눈부신 발전은 식생활의 변화와 더불어 현대인에게 과거에는 치료될 수 없었던 많은 질병의 완치를 가능하게 한 반면 과거에는 발생률이 낮았던 질병의 발생률을 높이고 새로운 질병이 발생하는 계기가 되었다. 특히 최근에는 평균 수명의 증가로 선진국들의 노령화사회의 진입이 지극히 빠르게 이루어지고 있어 노화 및 노화에 관련된 각종 퇴행성 신경질환과 심혈관계 질환 등의 질병에 관심이 커지고 있으며 그 원인이 활성산소에 기인된 것

이라는 산소 유해설이 많은 연구 보고들로부터 증명되고 있다(Jayaprakasha GK *et. al.*, 2001; Fang *et al.*, 2002; Kuhn MA, 2003). 우리가 매일 호흡을 통해 받아들이는 산소는 생명 유지를 위해 반드시 필요한 물질이나 흡수된 산소의 약 2~3% 정도는 체내에서 매우 불안정한 물질로 변화하여 독작용을 하게된다. 특히 산소로부터 파생된 자유기인 “활성산소종(reactive oxygen species, ROS)”은 세포의 주요 성분인 단백질, 핵산, 지질 등의 손상을 유발해 세포기능에 결정적인 해악을 미치게 된다(Gordon, 1996; Temple, 2000). 이처럼 우리 몸의 구성물질들이 활성산소들에 의해 산화되는 것을 “산화스트레스(oxidative stress)”라 한다. 산화스트레스의 발생에는 O₂⁻·(superoxide radical),

*교신저자(E-mail) : shiny@hc.ac.kr

OH· (hydroxyl radical), H₂O₂ (hydrogen peroxide), NO· (nitric oxide)와 같이 전자가 쌍을 이루지 못하여 극히 활동적인 free radical 및 lipid peroxide radical이 직접 관여하며 인체에서 가장 많이 생성되는 활성산소 종은 O₂⁻ 이다. 현대인은 인스턴트 식품의 과도한 섭취, 과도한 운동, 흡연, 심리적 스트레스의 증가 및 환경이나 배기가스 등의 화학물질에 대한 노출로 체내 활성산소의 생성이 증가하는 추세이다. 산화스트레스는 최근 암, 천식, 심혈관계 질환, 당뇨병, 염증반응 등 다양한 질병 과정에 관계한다고 밝혀지고 있으며 이를 극복하기 위한 연구가 여러 분야의 전문가에 의해 활발히 이루어지고 있다(Nordmann, 1993; Lee *et al.*, 2006).

이러한 질병들이 식생활과 밀접한 관련이 있음이 밝혀지면서 식품 중에 함유된 생리활성물질에 대한 연구가 다양한 식품이나 약용식물 그리고 녹차 등을 이용하여 이루어지고 있다. 생리활성 성분들 중 flavonoids와 catechin 등과 같은 polyphenol류의 물질들은 특히 암이나 관상동맥 질환 예방에 유효하다는 것이 역학적으로 증명되면서(Hollman *et al.*, 1996, Knekt *et al.*, 2002) 생리활성의 특성을 강조한 기능성 식품 혹은 건강식품을 이용한 질병 예방 및 영양상태 증진에 관한 관심이 더욱 고조되고 있다. flavonoids는 2개의 기본적인 벤젠 고리 구조에 OH기가 결합하는 위치 및 OH기의 수에 따라 flavonol, flavanone, catechin 등의 다양한 종류로 분류되며 free radical을 효과적으로 제거함으로써 항염증, 항알러지, 항암, 동맥경화 억제 등의 작용을 보인다고 밝혀져 왔다(Di Carlo *et al.*, 1999). kaempferol과 quercetin은 플라보노이드 성분 중 식품에 가장 많이 함유된 성분으로 차류나 양파에 특히 많이 함유되어 있다고 밝혀진 가장 대표적인 flavonoid 물질로 뛰어난 생리활성 물질로 알려져 있다(Di Carlo *et al.*, 1999). quercetin이 함유된 식품에 대한 연구는 비교적 많이 이루어져 특히 포도의 껍질을 모두 이용하는 적포도주에 많이 포함되어 있어 프랑스인들이 고기의 섭취가 많음에도 유럽에서 가장 심장병이 적다는 “French Paradox”라는 말이 나오기도 했다(Maria *et al.*, 2003).

본 연구 이전에 선행연구로 주변에서 가장 흔히 접하는 상용과채류를 이용한 항산화활성을 조사한 결과에서(Park, 2005) 사과는 포도, 키위, 토마토, 양파, 마늘, 감자, 고구마 등에 비해 아주 높은 항산화활성을 보였으며 사과의 경우 열을 가하여 익혔을 경우에도 신선한 상태에서와 거의

같은 정도의 높은 항산화활성을 유지하였다. 사과에 특히 많이 함유된 대표적인 플라보노이드 물질은 kaempferol과 quercetin으로 밝혀져 있다. 지금까지의 항산화물질의 연구는 주로 차류 및 각 종 과일, 야채류 그리고 약용식물들에 대한 항산화효과 그리고 유용한 식품에 대한 인체 적용 효과를 조사하는 것이 대부분으로 순수 생리활성물질 특히 플라보노이드 중에서도 가장 중요한 kaempferol과 quercetin을 이용한 항산화효과에 대한 연구가 의외로 미비한 실정이다.

본 연구에서는 *in vitro* 실험을 통해 두 가지 대표적 플라보노이드 물질인 kaempferol과 quercetin의 산화스트레스에 미치는 영향을 조사하였다. 혈관내피세포는 활성산소에 민감하게 반응하여 손상을 받을 수 있고 이러한 손상으로 인해 동맥경화의 원인이 될 수 있다고 알려져 있어(Takeo *et al.*, 2001) kaempferol과 quercetin을 이용한 항산화효과를 조사하기 위해 소의 혈관내피세포(cow pulmonary artery endothelium, CPAE)를 이용하였다. kaempferol과 quercetin은 둘 다 과일이나 채소에 많이 함유된 대표적인 플라보노이드 물질로 알려져 있다. 이 두 물질은 성분의 함량의 차이는 있으나 대부분의 과일이나 채소에 두 가지 물질이 동시에 함유되어 있으므로 두 가지를 동시에 처리하였을 경우 각각을 단독으로 처리하였을 때에 비해 어떤 차이가 있는지 조사할 필요가 있다. 그러므로 각각의 물질을 단독으로 처리하였을 경우와 두 가지 물질을 동시에 처리하였을 때의 산화스트레스 극복효과를 비교함으로써 이 두 가지 물질의 상승효과가 나타나는지를 함께 조사하였다.

재료 및 방법

세포배양

한국세포주은행(Korean Cell Line Bank)에서 구입한 CPAE cell을 10% fetal bovine serum(FBS, Gibco), 100 units/mL penicillin과 100µg/mL streptomycin이 보충된 Gibco사의 RPMI 1640 배지로 CO₂배양기(NUAIR NU-4750E, 5% CO₂)를 이용하여 37°C에서 배양하였다. 여러 번의 subculture을 시행하여 실험에 사용될 충분한 농도의 세포를 배양하였고 배지는 이틀에 한번씩 교환하였다.

산화스트레스 및 kaempferol, quercetin의 처리

1) 산화스트레스

Kaempferol과 quercetin의 산화스트레스 극복효과를

조사하기 위해 CPAE 세포에 최종 농도가 1 mM이 되도록 H₂O₂를 처리하여 5시간 동안 반응 시켰다.

2) 시료의 처리

두 가지 항산화물의 산화스트레스 극복효과를 보기 위해 4개의 처리군으로 나누어 kaempferol과 quercetin을 처리하였다.

- ① 세포활성에 대한 kaempferol과 quercetin의 영향: H₂O₂를 처리하지 않은, 즉 산화스트레스가 없는 상태의 CPAE 세포에 kaempferol과 quercetin을 처리한 경우
- ② 산화스트레스에 대한 kaempferol과 quercetin의 preincubation효과: H₂O₂를 처리하기 전에 미리 CPAE 세포에 kaempferol과 quercetin을 각각 17시간 처리한 후 (preincubation) H₂O₂를 처리한 경우
- ③ 산화스트레스에 대한 kaempferol과 quercetin의 효과: CPAE 세포에 항산화물을 미리 처리하지 않고 kaempferol과 quercetin 각각을 H₂O₂ 처리 시에 함께 처리한 경우
- ④ 산화스트레스에 대한 kaempferol과 quercetin의 상승효과: kaempferol과 quercetin을 단독으로 처리하지 않고 두 가지 물질을 일정 비율로 섞은 다음 H₂O₂ 처리 시에 함께 처리한 경우

세포활성도 측정(MTT 반응)

CPAE 세포의 밀도가 24 well plate의 각 well당 동일한 세포 수가 되도록 현미경하에서 cell counting을 한 후 1×10⁵ cells/well이 되도록 plating하여 CO₂ 배양기에서 하루동안

배양시켰다. 세포의 활성도는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 방법을 이용하여 측정하였다(Benedi 등, 2004). 이 assay법은 살아있는 세포는 세포 내 미토콘드리아 효소인 dehydrogenase를 이용하여 MTT를 환원하여 불용성의 푸른 색을 띠는 formazan을 생성하는 능력을 측정하는 것이다. 그러므로 생성된 formazan의 양은 살아있는 세포의 수에 비례한다. 생성된 formazan을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹이고 540 nm에서 흡광도를 측정하여(Shimadzu UV-1700) H₂O₂와 시료를 처리하지 않은 세포들을 control로 하여 세포의 활성도를 %로 나타내었다.

$$\text{Cell viability}(\%) = (\text{처리구의 흡광도} / \text{control 흡광도}) \times 100$$

이상의 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma제품을 사용하였고 세포 활성도의 측정은 동일 처리구를 6 well 반복하여 얻은 결과를 mean±standard error로 기록하였다. 얻어진 data들은 Student's t-test를 사용하여 유의성 검정을 행하였다.

결과 및 고찰

세포활성에 대한 kaempferol과 quercetin의 영향

H₂O₂를 처리하지 않은 즉 산화스트레스가 없는 상태의 CPAE 세포에 저 농도로부터 고농도까지 다양한 농도의 kaempferol과 quercetin을 처리한 후 MTT방법을 이용하여 세포의 활성을 조사하였다(Fig. 1 and 2).

Kaempferol과 quercetin을 처리하지 않은 control 세

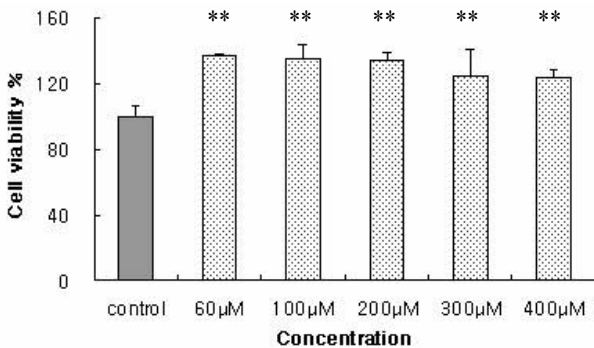


Fig. 1. Effects of various concentrations of the kaempferol on CPAE cell viability. Results are expressed as percentage of control (no treatment group of antioxidants); (**)*P* < 0.01 compared with control group.

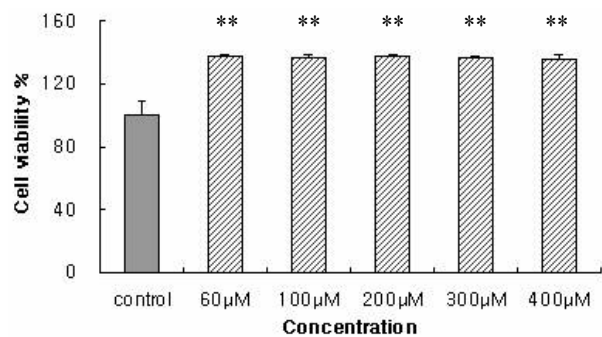


Fig. 2. Effects of various concentrations of the quercetin on CPAE cell viability. Results are expressed as percentage of control (no treatment group of antioxidants); (**)*P* < 0.01 compared with control group.

포의 활성에 비해 처리군의 경우 모든 농도에서 비처리군에 비해 세포들의 활성이 유의적으로 증가되었다. 그러나 각 농도에 따른 활성도의 차이는 거의 보이지 않았다. 비록 저농도 처리군이 고농도 처리군에 비해 조금 더 높은 활성을 보였으나 60 μM 이나 400 μM 간에 유의적 차이는 보이지 않았다. 이처럼 산화스트레스를 받고 있지 않은 정상적인 세포의 경우에도 kaempferol과 quercetin과 같은 항산화물의 첨가로 세포활성도가 증가되었다. 이 같은 결과는 정상적인 세포의 경우 대사적인 과정에서 생성되는 free radical을 제거할 수 있는 방어적 mechanism이 작동되고 있으나 항산화물의 첨가로 free radical이 좀 더 효과적으로 제거될 수 있으며 저농도의 항산화물로도 충분한 효과를 기대할 수 있는 것으로 생각된다.

Kaempferol과 quercetin의 산화스트레스 극복효과

Kaempferol과 quercetin의 preincubation효과

산화스트레스를 유발하기 전에 17시간 동안 미리 kaempferol과 quercetin을 처리한 CPAE 세포에 H_2O_2 를 처리하였을 때 나타나는 산화스트레스 극복효과를 조사하였다(Fig. 3).

산화스트레스를 받지 않은 control 상태의 세포활성도가 100%일 경우 H_2O_2 를 처리한 세포들의 세포활성도는 약 20%로 급격히 세포활성도가 감소되는 것을 알 수 있었다. 항산화물 처리군의 경우 저농도에서의(60, 100 μM) 세포활성도는 무처리군과 별 차이를 보이지 않았으나 고농도 처리군에서는 산화스트레스 극복효과가 현저히 나타났다. Quercetin의 경우 200 μM 처리군에서 kaempferol은 260 μM 처리군에서 무처리군에 비해 약 8배 정도 높은 세포활성을 보였

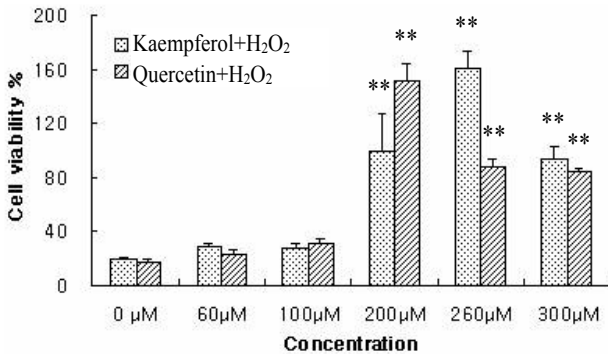


Fig. 3. Protective effect of CPAE cells from oxidative stress. CPAE cells were preincubated with various concentrations of kaempferol and quercetin for 17h. before H_2O_2 treatment; (**)
 $P < 0.01$ compared with no treatment group (0 μM group).

다. 그러나 300 μM 처리군의 경우 세포 활성도가 오히려 최대치의 반으로 감소되었다.

산화스트레스 처리와 함께 처리한 kaempferol과 quercetin의 단독효과

산화스트레스를 가하기 이전에 항산화물을 미리 처리한 경우와 산화스트레스 유발과 함께 항산화물을 처리한 경우의 효과를 비교하기 위해 H_2O_2 처리 직전에 kaempferol과 quercetin을 처리하여 산화스트레스와 항산화물을 동시에 처리한 경우의 산화스트레스 극복효과를 조사하였다(Fig. 4). Preincubation 처리군에 비해 저농도(60, 100 μM)에서도 무처리군에 비해 약 20~30% 정도 높은 세포활성도를 보였다. Quercetin 처리군의 경우 무처리군에 비해 약 9배 정도 높은 활성을 보여 preincubation 처리군 보다 좀 더 높은 세포 활성을 보였다. 세포활성도는 quercetin 처리군이 kaempferol 처리군에 비해 전반적인 처리 농도군에서 높게 나타났다.

이상의 결과에서 kaempferol과 quercetin은 모두 정도의 차이는 있으나 산화스트레스로 인한 세포의 사멸을 억제하는 것으로 나타났다. 일반적으로 H_2O_2 와 같은 활성산소종들은 생명현상에 중요한 고분자물질들을 파괴함으로써 세포사멸을 유도한다고 알려져 있다(Jang and Surh, 2001). 그러므로 산화스트레스 즉 H_2O_2 의 처리로 발생하는 과도한 ROS가 kaempferol이나 quercetin같은 항산화물의 처리로 억제되거나 제거됨으로써 산화로 인한 세포사멸이 효과적으로 방지되었다고 생각된다. 이들 물질은 강력한 free radical 제거기능과 함께 산화적인 조직의 손상

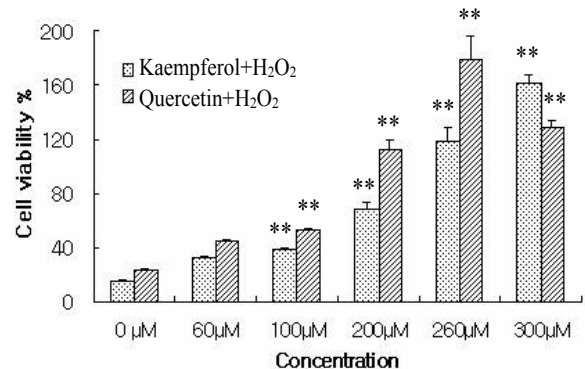


Fig. 4. Protective effect of CPAE cells from oxidative stress. Kaempferol and quercetin were treated with H_2O_2 at the same time and incubated for 5h; (**)
 $P < 0.01$ compared with no treatment group (0 μM group).

을 일으킨다고 알려진 xanthine oxidase 활성을 억제시킴으로써 superoxide anion radical의 형성 자체를 억제하는 기능을 가지고 있으므로(Selloum 등, 2001) H₂O₂의 처리로 유도된 세포독성 효과를 크게 억제시켜 H₂O₂의 처리구에 비해 세포사멸을 억제시킴으로써 cell viability가 크게 증가된 것으로 생각된다. Juana 등은(2004) 우울증의 치료에 주로 사용된 서양고추나물(*Hypericum perforatum* L.)의 추출물을 세포와 함께 배양한 경우 H₂O₂ 처리된 세포내에 축적된 ROS가 제거되었으며 동시에 H₂O₂ 처리로 증가된 caspase-3 활성이 억제됨을 밝혀 항산화활성을 가지는 항우울증 치료제로 *H. perforatum* L. 추출물의 중요성을 증명하였다.

Kaempferol과 quercetin의 처리시기를 달리한 결과에서 H₂O₂ 처리 17시간 전에 CPAE 세포에 미리 항산화물을 처리한 경우(preincubation)와 H₂O₂와 동시에 처리한 경우의 세포활성의 변화는 저농도에서는 거의 유사하게 나타났다. 그러나 고농도(300 μM)에서의 세포활성의 경우 preincubation을 시킨 세포에서 더욱 현저하게 활성이 감소되었다. 이러한 결과는 고농도의 kaempferol 처리로 세포 독성이 나타났다는 Montero등의(2004)의 보고와 일치한다. 고농도의 kaempferol은 직접적으로 미토콘드리아의 칼슘채널을 활성화시키고 미토콘드리아로의 칼슘의 흡수는 막의 투과성을 증가시킴으로써 세포사멸을 일으킨다고 보고하였다. 고농도의 kaempferol을 preincubation시킨 경우 세포내에서의 독성 작용이 더욱 오래 지속이 됨으로써 세포 활성의 감소가 더욱 현저하게 일어난 것으로 판단된다.

산화스트레스에 대한 kaempferol과 quercetin의 상승효과

항산화물에 의한 산화스트레스 억제에 두 가지 항산화물질이 함께 작용함으로써 단독으로 처리했을 때에 비해 상승효과를 기대할 수 있는지 알아보기 위해 일정 비율로 섞은 kaempferol과 quercetin을 H₂O₂와 동시 처리한 후 세포 활성도를 조사하였다(Table 1). Kaempferol과 quercetin을 8:2로 혼합한 처리군의 세포 활성이 2:8로 혼합한 처리군에 비해 세포 활성이 유의적으로 높게 나타나 kaempferol이 quercetin에 비해 많이 함유되어 있는 경우에 항산화활성에 대한 두 물질의 상승효과가 나타나는 것으로 생각된다. Fig. 3과 Fig. 4의 결과에서 보여주는 것과 같이 각각의 물질을 단독으로 처리한 경우 300 μM의 고농도 처리군에서는 오히려 260 μM 처리군 보다 활성이 급격히 감소됨을 알 수 있었다. 그러나 Kaempferol과 quercetin 두 가지 물질을 혼합하여 처리한 Table 1의 결과에서는 두 물질을 혼합하여 처리한 경우 처리 농도가 증가함에 따라 활성도는 증가하였고 500 μM 처리군에서 가장 높은 세포활성을 보였다. 특히 kaempferol과 quercetin을 8:2로 처리한 500 μM 처리군의 경우 control에 비해 2.8배나 높은 세포활성을 보였고 H₂O₂만 처리된 항산화물질 무처리군에 비해 14배 정도나 높은 세포활성을 보였다. Ackland 등(2005)은 배양된 암세포에 kaempferol과 quercetin을 동시에 처리한 경우 각각을 단독으로 처리했을 경우에 비해 더욱 효과적으로 암세포의 생장이 억제되었는데 이는 두 가지 물질의 상승효과로 인해 핵항원인 Ki67과 총단백질 함량이 크게 저하되었기 때문으로 보고하였다. 그러나 식품으로부터

Table 1. Synergistic cytoprotective effects of mixed treatment of kaempferol and quercetin against H₂O₂(1mM) induced cytotoxicity.

¹⁾ kaempferol and quercetin mixed at 2:8 ratio

²⁾ kaempferol and quercetin mixed at 8:2 ratio

Conc.	Cell viability, %			
	Control	+H ₂ O ₂	+H ₂ O ₂ , K+Q(2:8) ¹⁾	+H ₂ O ₂ , K+Q(8:2) ²⁾
0.0μM	100	-	-	-
1000μM	-	19±2.4	-	-
100μM	-	-	32 ± 1.5	40 ± 4.0
200μM	-	-	117 ± 15.4	137 ± 8.9
300μM	-	-	125 ± 5.2	130 ± 0.8
400μM	-	-	115 ± 5.6	167 ± 13.8
500μM	-	-	184 ± 7.1	276 ± 28.3

터 섭취되는 플라보노이드 종류는 한 종류만이 아니고 아주 다양하므로 이들 물질들이 서로 어떠한 상관관계를 가지면 인체 내에서 작용하는가에 대한 연구가 더 필요하다고 생각된다.

과일이나 야채 등 플라보노이드의 함량이 높은 식품의 섭취가 다양한 퇴행성 질병의 예방과 항암작용을 보이는 것은 발암과정에 관여하는 체내에서 생성된 ROS의 제거와 같은 항산화작용이 항암효과에 중요하게 작용하기 때문이라 판단된다.

적 요

Flavonoid는 거의 모든 야채와 과일에 함유된 주요한 구성 성분이며 flavonol은 flavonoid 그룹 중 하나로 우리가 식품으로 섭취하는 대표적인 성분으로는 kaempferol과 quercetin이 알려져 있다. kaempferol과 quercetin은 퇴행성질환의 예방에 효과가 있다고 알려져 있어 식품 첨가물로 사용되고 있다. 본 연구의 목적은 항산화제로도 알려진 kaempferol과 quercetin을 이용하여 다양한 농도에서의 소의 폐혈관내피 세포주에 대한 각각의 산화스트레스 보호효과와 두 가지 물질의 동시 처리 시에 나타날 수 있는 상승효과를 밝히기 위함이다.

1 mM의 H₂O₂를 처리하여 산화스트레스를 가한 세포나 가지지 아니한 세포에서나 모두 kaempferol과 quercetin의 처리로 세포의 활성도가 높았다. 그러나 특히 산화스트레스를 가한 세포에서 항산화물의 산화스트레스 극복효과가 현저하게 나타났다. 항산화물의 농도가 고농도의 경우 오히려 증가된 세포활성도가 저하되는 반응을 보여 너무 높은 농도의 처리는 오히려 항산화효과를 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 일반적으로 우리가 섭취하는 식품에는 kaempferol과 quercetin이 함께 포함되어 있으므로 이 두 가지 물질을 일정 비율로 서로 섞은 다음 산화스트레스 처리와 함께 처리하여 조사한 결과 단독으로 처리한 결과와 달리 고농도 조건에서도 세포활성도가 아주 높게 나타났다.

이상의 결과에서 항산화물은 생체에서 일어날 수 있는 많은 산화스트레스 상태를 완화시킬 수 있으나 가장 우수한 효능을 나타낼 수 있는 적정 농도의 조사가 중요하며 특히 각각의 항산화물을 단독으로 사용하는 것 보다 함께 사용하는 것이 상승효과를 나타낼 수 있음을 알 수 있었다.

인용문헌

Ackland, M.L., Waarsenburg, S., and Jones, R. 2005. Synergistic antiproliferative action of the flavonols quercetin and kaempferol in cultured human cancer cell lines. *In Vivo*. 19: 69-76.

Di Carlo, Mascolo, G.N., Izzo, A.A., and Capasso, F. 1999. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci*. 65: 337-353.

Fang Y.Z., Yang, S., and Wu, G. 2002. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18:872-879.

Gordon, M.H. 1996. Dietary antioxidants in disease prevention. *Natural Product Reports*. 265-273.

Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., and Katan, M.B. 1996. Role of dietary flavonoids in protection against cancer and coronary heart disease. *Bioact. Compd. Food* 24, 785-789.

Jang, J.H., and Surh, Y.J. 2001. Protective effects of resveratrol on hydrogen peroxide-induced apoptosis in rat pheochromocytoma (PC 12) cells. *Mutat. Res*. 496: 181-190.

Jayaprakasha, G.K., Singh, R.P., and Sakariah, K.K. 2001. Antioxidant activity of grape seed(*Vitis vinifera*)extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chem*. 73:285-290.

Juana, B., Arroyo, R., Romero, C., Martin-Aragon, S., and Villar, A.M. 2004. Antioxidant properties and protective effects of a standardized extract of *Hypericum perforatum* on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells. *Life Sci*. 75: 1263-1276.

Kenkt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., and Aromaa, A. 2002. Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *Am. J. Clin. Nutr*. 76, 560-568.

Kuhn, M. A. 2003. Oxygen free radicals and antioxidants. *Am. J. Nurs* 103: 58-62.

Lee, S.E., Son, D.W., Yoon, Y.P., Lee, S.Y., Lee, B.J., and Lee, S. H. 2006. Protective effects of the methanol extracts of *Acanthopanax koreanum* against oxidative stress. *Kor. J. Pharmacogn*. 37: 16-20.

Maria, C., Claudio, C., Lisa, E., Isabella, N., and Ingrid, Z. 2003. Direct HPLC analysis of quercetin and trans-resveratrol in red wine byproducts. *J. Agric. Food Chem.*, 51: 5226-5231.

Nordmann, R. 1993. Free radicals, oxidative stress and antioxidant vitamins. *C.R. Seances Soc Biol Fil*. 187: 277-285.

- Park, S.Y. 2005. Antioxidant activity of common fruits and vegetables. J. Cheju Halla College. 29: 59-67.
- Selloum, L., Reichl, S., Muller, M. Sebihi, L., and Arnhold, J. 2001. Effects of flavonols on the generation of superoxide anion radicals by xanthine oxidase and stimulated neutrophils. Arch. Biochem. Biophys. 395. 49-56.
- Takeo, E., Yoshida, H., Tada, N., Shingu, T., Matsuura, H., Murata, Y., Yoshikawa, S., Ishikawa, T., Nakamura, H., Ohsuzu, F., and Kohda, H. 2001. Sweet elements of *Siraitia Grosvenori* inhibit oxidative modification of low-density lipoprotein. J. Atherosclerosis and Thrombosis 9, 114-120.
- Temple, N.J. 2000. Antioxidants and disease: more question than answers. Nutrition Research. 20: 449-459.

(접수일 2007.7.23; 수락일 2008.10.14)