

흰민들레 Ethyl Acetate 분획물 및 Flavonoid 화합물의 Hydrogen Peroxide와 Amyloid Beta에 의한 신경세포의 산화적 스트레스 보호 효과

이아영¹ · 최지명¹ · 이설림² · 김현영³ · 이상현^{2*} · 조은주^{1*}

¹부산대학교 식품영양학과, ²중앙대학교 식물시스템과학과, ³경남과학기술대학교 식품과학부

The Protective Effects of the Ethyl Acetate Fraction and Flavonoids from *Taraxacum coreanum* against Oxidative Stress in Neuronal Cells Induced by Hydrogen Peroxide and Amyloid Beta

Ah Young Lee¹, Ji Myung Choi¹, Sullim Lee², Hyun Young Kim³, Sanghyun Lee^{2*}, and Eun Ju Cho^{1*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Department of Integrative Plant Science, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

³Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Korea

Abstract – The protective role against oxidative stress under cellular system using C6 glioma cells was studied using the ethyl acetate (EtOAc) fraction, luteolin (1), and luteolin-7-glucoside (2) of *Taraxacum coreanum*. C6 glioma cells showed low cell viability and high generation of reactive oxygen species (ROS) by the treatment with generator of hydrogen peroxide (H₂O₂) and amyloid beta (Aβ₂₅₋₃₅). However, the treatment of the EtOAc fraction attenuated the cellular oxidative stress, resulting in significant elevation of cell viability. In addition, the production of ROS formation was also decreased by the treatment of the EtOAc fraction. Compounds 1 and 2 were isolated from the EtOAc fraction, and the protective effect was evaluated. Compounds 1 and 2 led to the increase of cell viability and decrease of production of ROS against oxidative stress by H₂O₂ and Aβ₂₅₋₃₅. The present study indicated that the EtOAc fraction, compounds 1 and 2 from *T. coreanum* demonstrated protective effects against oxidative stress, suggesting the preventive role against neurodegenerative diseases.

Key words – *Taraxacum coreanum*, luteolin, luteolin-7-glucoside, oxidative stress, C6 glioma cells

호기성 대사에서 산소는 생명유지에 필수적이지만 superoxide anion radical (O₂⁻), hydroxyl radical (·OH), hydrogen peroxide (H₂O₂) 등의 활성산소종은 세포 손상을 야기시키는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 이들은 산화력이 매우 강하기 때문에 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스를 유발하게 되고 이는 곧 지질과산화, 단백질, 세포막 및 DNA 등을 손상시킨다.²⁾ 뇌는 세포막에 불포화 지방산이 풍부하고 순환하는 산소가 집중되어 있으며, 반응성 산소 유리기 반응의 촉매인 금속(철분, 구리, 아연, 알루미늄)이 풍부하기 때문에 퇴행성 신경질환과 관련이 크다.³⁾ Alzheimer와 Parkinson병과 같은 신경계 질환은 산화적 스트레스에 의한 신경세포 손상에 의해 발생되며, 천연 항산화제인 flavonoid, polyphenol 등은 산화적 스트레스로부터 신경세

포 보호효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다.⁴⁾ 최근 이러한 퇴행성 신경질환을 치료하기 위해 항산화제 처리, 세포이식, 외과적 수술 등 다양한 치료 방법이 제시되고 있지만 여러 가지 위험요소 및 부작용 등으로 신경세포의 손상 보호에 적합한 치료제는 아직까지 개발되지 못하고 있는 실정이다. 반면, 평소 식습관을 올바르게 잡음으로써 이러한 퇴행성 질환의 발병을 줄일 수 있고 치료에 효과를 더할 수 있어 사람들은 의약품이 아닌 식품으로부터 해결책을 찾고 있다. 따라서 최근 다양한 식품과 천연자원으로부터 보다 안전한 치료 및 예방효과를 나타낼 수 있는 화합물들의 개발이 절실히 요구되고 있다.⁵⁾

민들레는 국화과에 속하는 다년생 초본으로 오랫동안 약용식물로 사용되어 왔으며, 전세계적으로 약 2000여종이 존재하는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 특히, 흰민들레(*Taraxacum coreanum* Nakai)는 우리나라 각 지역에서 자라나는 재배종

*교신저자(E-mail): slee@cau.ac.kr, ejcho@pusan.ac.kr
(Tel): +82-31-670-4688, +82-51-510-2837

으로 민들레와 비슷하지만 꽃이 흰색인 것이 다른 점이며, 민간에서는 흰민들레를 간장, 해열, 이뇨, 소염 등의 약용재료로 사용되어 왔고, 최근에는 흰민들레 추출물의 항산화 및 항균활성, aldose reductase 억제 활성, 항염증 효과에 대한 연구가 국내외적으로 진행되고 있다.⁷⁻¹¹⁾ 그러나 흰민들레의 산화적 스트레스에 의해 유발될 수 있는 신경세포의 손상 보호효과에 대한 연구는 행해져 있지 않다. 이전 연구에서 흰민들레의 *n*-hexane, trichloromethane(CHCl₃), ethyl acetate(EtOAc), *n*-butanol(*n*-BuOH) 분획물로 DPPH 소거능을 실험한 결과 EtOAc 분획물이 가장 항산화 활성이 우수한 화분으로 보고 하였다.¹²⁾ 또한, 흰민들레 EtOAc 분획물로부터 분리한 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)가 cellular system에서 NO와 PGE₂의 생성에 관여하는 iNOS와 COX-2의 발현을 저해시키는 역할을 하는 것으로 밝혀졌다.¹³⁾

본 연구에서는 신경교종세포의 일종인 C6 glioma cell에서 H₂O₂와 Aβ₂₅₋₃₅에 의한 산화적 스트레스 보호효과를 흰민들레 EtOAc 분획물과 luteolin(1) 및 luteolin-7-glucoside(2)를 이용하여 연구함으로써 기능성 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 추출, 분획 및 분리 - 실험에 사용한 흰민들레 (*T. coreanum*) 지상부는 2007년도에 서해안 고속도로변에서 채집하였다. 식물동정(No. LEE 2007-01)은 중앙대학교 안영희교수님으로부터 감정을 받아 사용하였고, 표본은 중앙대학교 식물시스템과학과에 보관하였다. 잘 건조된 흰민들레(1,970.2 g)를 메탄올로 환류냉각 추출하여 메탄올 추출물(692.8 g)을 얻었다. 메탄올 추출물은 물에 현탁하여 유기용매로 각각 분획하였다. 각 *n*-hexane(98.8 g), CHCl₃(11.8 g), EtOAc(23.2 g), *n*-BuOH(25.2 g) 분획물을 얻었다. Luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)는 EtOAc 분획물로부터 *n*-hexane-EtOAc(100% *n*-hexane up to 100% EtOAc) 및 EtOAc-MeOH(EtOAc-MeOH mixture of increasing polarity) 용매 비율기 조성으로 분리 정제하여 사용하였다.¹⁴⁾

Compound 1: Yellow powder; EI-MS (rel. int., %): *m/z* 286 [M]⁺ (100), 258 (12.2), 229 (4.1), 153 (18.5), 129 (9.4); ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 6.67 (s, H-3), 6.18 (d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.37 (d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 7.39 (d, *J* = 1.7 Hz, H-2'), 6.88 (d, *J* = 8.5 Hz, H-5'), 7.40 (dd, *J* = 1.7, 8.5 Hz, H-6'), 12.98 (s, 5-OH); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ 163.9 (C-2), 102.9 (C-3), 181.6 (C-4), 161.4 (C-5), 98.8 (C-6), 164.1 (C-7), 93.8 (C-8), 157.3 (C-9), 103.7 (C-10), 119.0 (C-1'), 113.4 (C-2'), 145.7 (C-3'), 149.7 (C-4'), 116.0 (C-5'), 121.5 (C-6').

Compound 2: Yellow powder; EI-MS (rel. int., %): *m/z*

286 [M-Glc]⁺; ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): δ 6.76 (s, H-3), 6.48 (d, *J* = 2.1 Hz, H-6), 6.79 (d, *J* = 2.1 Hz, H-8), 7.42 (d, *J* = 2.4 Hz, H-2'), 6.91 (d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 7.44 (dd, *J* = 2.4, 8.4 Hz, H-6'), 12.98 (s, 5-OH), 5.08 (d, *J* = 7.2 Hz, anomeric H-1); ¹³C-NMR (75 MHz, DMSO-d₆): δ 164.5 (C-2), 103.2 (C-3), 181.9 (C-4), 161.2 (C-5), 99.6 (C-6), 163.0 (C-7), 94.8 (C-8), 157.0 (C-9), 105.4 (C-10), 121.4 (C-1'), 113.6 (C-2'), 145.8 (C-3'), 150.0 (C-4'), 116.0 (C-5'), 121.4 (C-6'), 99.9 (Glc-1), 73.1 (Glc-2), 77.2 (Glc-3), 69.6 (Glc-4), 76.4 (Glc-5), 60.6 (Glc-6).

세포 종류 및 시약 - C6 glioma cell은 한국 세포주 은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 배양을 위한 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)과 fetal bovine serum(FBS), trypsin EDTA 용액은 WelGENE (Gunsan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 산화적 스트레스를 유도시키기 위해 사용한 H₂O₂는 Junsei(Tokyo, Japan)사 제품을, Aβ₂₅₋₃₅는 Sigma Aldrich(Saint Louis, Missouri, USA)에서 구입하였다.

세포 배양 - C6 glioma cell은 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM을 각각 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 1~2일에 한번 배양액을 바꾸어 주고 배양하여 세포분화가 최대에 도달하였을 때 phosphate buffered saline으로 세포를 세척한 후 0.05% trypsin과 0.02% EDTA 혼합액으로 부착된 세포를 분리한 뒤 원심분리 하여 세포를 모은 다음 세포와 배지를 잘 혼합하여 계대배양하였다.

Cell Viability - 세포가 confluence상태가 되면 96 well tissue culture plate에 5×10⁴ cells/well로 seeding하여 2~4시간 37°C 에서 배양한 후 세포가 잘 부착되면, 산화적 스트레스를 유발하기 위해서 H₂O₂(100 μM), Aβ₂₅₋₃₅(25 μM)를 처리하여 24시간 배양하였다. 산화적 스트레스 유발 후 시료를 농도 별로 처리하여 24시간 배양한 뒤 5 mg/100 ml의 MTT solution을 각 well에 주입하여 37°C에서 4시간 동안 재배양한 후 생성된 formazan 결정을 빛을 차단한 상태에서 DMSO에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Reactive Oxygen Species(ROS) 측정 - 세포가 confluence상태가 되면 96 well tissue culture plate에 5×10⁴ cells/well로 seeding하여 2~4시간 37°C에서 배양한 후 세포가 잘 부착되면, 산화적 스트레스를 유발하기 위해서 H₂O₂(100 μM), Aβ₂₅₋₃₅(25 μM)를 처리하여 24시간 배양하였다. 산화적 스트레스 유발 후 시료를 농도 별로 처리하여 24시간 배양한 뒤 80 μM의 DCFDA 용액을 각 well에 주입하여 37°C에서 30분 동안 재배양한 후 Fluorescence에서 ex-480 nm, em-535 nm로 측정하였다.

통계분석 - 대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 평균±표준편차로 나타내었고, 각 실험 결과로부터

ANOVA(analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple test를 이용하여 각 군의 평균 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

H_2O_2 는 세포 내에서 유전자 발현을 조절하기도하고, 세포의 행동, 운동, 모양 등을 조절하는 신호전달물질로 작용한다. 하지만 구리나 철 이온 존재 하에 $\cdot OH$ 로 전환되어 산화적 스트레스를 유발함에 따라 세포손상을 일으켜 퇴행성 신경질환, 암 등의 각종 질병을 일으키게 된다.¹⁵⁾ 특히, 다른 장기에 비하여 뇌는 대사를 위한 산소 이용률이 높고 과산화 지질의 함량이 높은 반면 활성산소에 대한 산화방지 효소계가 타 조직에 비하여 상대적으로 적기 때문에 H_2O_2 에 의한 산화적 스트레스로 신경세포의 사멸 유도도 인한 퇴행성 신경질환과 관련이 큰 것으로 여러 연구를 통해 보고 되어지고 있다.¹⁶⁾

Alzheimer의 주요 원인은 아직 명확히 밝혀지지 않았지만 산화적 스트레스가 주요 원인으로 amyloid precursor protein 단백질의 비정상적인 분해로 인한 $A\beta_{25-35}$ 의 침적으로 생기는 amyloid 증폭가설이 강조되고 있다.¹⁷⁾ Senile plaque의 주요 성분이 $A\beta_{25-35}$ 라고 알려지고 $A\beta_{25-35}$ 에는 독성이 있어 $A\beta_{25-35}$ 에 대한 독성을 제거하거나 산화적 스트레스로부터 신경세포를 보호하기 위한 연구가 진행 중이다.¹⁸⁾ Alzheimer 환자의 뇌에서 산화적 스트레스의 축적은 단백질 산화, 지질과산화, free radical형성, DNA/RNA 산화 등을 야기시키며, 이는 인지능력, 기억능력, 언어능력의 상실을 초래한다.¹⁹⁾ 한가지 Alzheimer 치료 전략은 $A\beta_{25-35}$ 와 관련된 산화적 스트레스를 내인성, 외인성 그리고 뇌에 접근 가능한 항산화제를 이용하는 것이다. 그리하여 본 연구에서는 흰민들레가 C6 glioma cell에 H_2O_2 와 $A\beta_{25-35}$ 로부터 항산화제로 적용 가능한지에 대해 알아 보았다.

Table I에서는 MTT assay를 이용하여 H_2O_2 처리로 산화적 스트레스를 일으켜 세포 생존율을 측정하였다. 흰민들레

Table I. Effect of the EtOAc fraction from *T. coreanum* on cell viability of C6 glioma cell treated with H_2O_2

Treatment	Concentration ($\mu g/ml$)	Cell viability (%)
Normal		100.00 \pm 2.24 ^a
H_2O_2 -treated Control		58.05 \pm 3.69 ^{cd}
EtOAc fraction	5	54.83 \pm 3.72 ^b
	25	60.77 \pm 1.74 ^c
	50	62.98 \pm 4.46 ^c
	100	74.91 \pm 5.07 ^d

Values are mean \pm SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

의 *n*-hexane, $CHCl_3$, EtOAc, *n*-BuOH 분획물로 DPPH 소거능을 실험한 결과 EtOAc 분획물이 가장 항산화 활성이 우수한 획분으로 보고되었고,¹²⁾ EtOAc 분획물로부터 분리된 luteolin(1), luteolin-7-glucoside(2)이 cellular system에서 NO와 PGE_2 의 생성에 관여하는 iNOS와 COX-2의 발현을 저해시키는 역할을 하는 것으로 밝혀졌다.¹³⁾ 흰민들레 분획물 및 활성물질의 H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 C6 glioma cell에 대한 보호 효과를 측정할 결과를 보면 정상군의 세포 생존율을 100%로 보았을 때, H_2O_2 를 처리한 대조군에서는 58.05%로 나타내어 신경세포가 H_2O_2 에 의해 손상을 받은 것을 확인할 수 있었다. 반면, 흰민들레 분획물과 생리활성물질인 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)를 처리하였을 때(Table II), 농도 유의적으로 세포생존율이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 흰민들레 EtOAc 분획물은 100 $\mu g/ml$ 에서 74.91%를 나타내었고, 활성물질인 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)은 0.5 $\mu g/ml$ 의 농도에서 각각 77.26%, 78.45%의 높은 세포 생존율을 나타내는 것으로 보아 H_2O_2 에 의한 세포 손상에 대하여 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

세포 내 과산화수소를 측정하는 대표적 물질인 DCF-DA는 세포막을 통과하여 세포 내 esterase에 의해 비형광성 DCFH로 탈아세틸화 되며, DCFH는 활성산소종인 과산화수소에 의해 산화되어 강한 형광을 나타내는 DCF가 되는

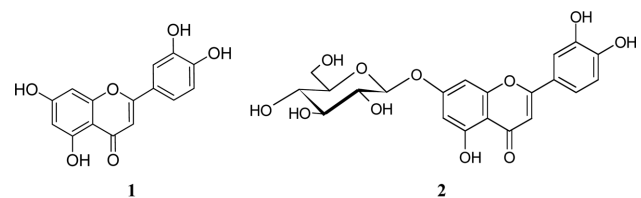


Fig. 1. Structures of luteolin (1) and luteolin-7-glucoside (2).

Table II. Effect of luteolin (1) and luteolin-7-glucoside (2) on cell viability of C6 glioma cells treated with H_2O_2

Treatment	Concentration ($\mu g/ml$)	Cell viability (%)
Normal		100.00 \pm 2.41 ^a
H_2O_2 -treated Control		55.42 \pm 1.11 ^d
1	0.1	58.06 \pm 1.14 ^{cd}
	0.25	59.76 \pm 3.08 ^c
2	0.5	77.26 \pm 1.68 ^b
	0.1	60.59 \pm 0.75 ^{cd}
	0.25	65.17 \pm 9.11 ^c
	0.5	78.45 \pm 3.15 ^b

Values are mean \pm SD.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

원리²⁰⁾를 이용하여 흰민들레 EtOAc 분획물, luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)의 세포 내 활성산소종 억제 효과를 알아보았다. Fig. 2, 3을 살펴보면, 시간이 지남에 따라 모든 군에서 ROS 생성량이 증가하는 것을 보였으며, 이를 통해 산화적 스트레스가 유발되었음을 알 수 있었다. 60분 기준으로 대조군을 100%로 하였을 때 흰민들레 EtOAc 분획물과 luteolin(1), luteolin-7-glucoside(2)을 농도 별로 처리한 결과, 대조군에 비해 ROS생성량이 감소한 것을 확인할 수 있었다. 흰민들레 EtOAc 분획물에서는 25, 50 µg/ml의 농도에서 정상군(76.72%)과 비슷하게 각각 76.65%, 76.47%를 보였으며, 특히 luteolin(1) 10 µg/ml의 농도에서는 정상군의 75.54%보다 낮은 72.38%를 보임으로써 가장 높은 ROS 소거능을 보였다. 결과적으로, 신경세포사멸 보호효과 및 세포내 ROS 소거능과 상관관계가 있으며, 이러한 활성이 ROS에 의해 야기되는 뇌세포 사멸에 대한 보호 작용의 역할을 할 것으로 생각된다.

Amyloid beta 단백질은 40-42개의 아미노산 peptide로 Alzheimer 환자의 뇌에서 plaque를 형성하며 이는 곧 신경독성을 일으켜 인지능력 상실을 초래한다.²¹⁾ 이전 연구에 따르면 신경세포에서의 H₂O₂의 증가는 Alzheimer병의 Aβ₂₅₋₃₅와의 독성과 관계되며, 이는 곧 세포 사멸을 유도하며 산화

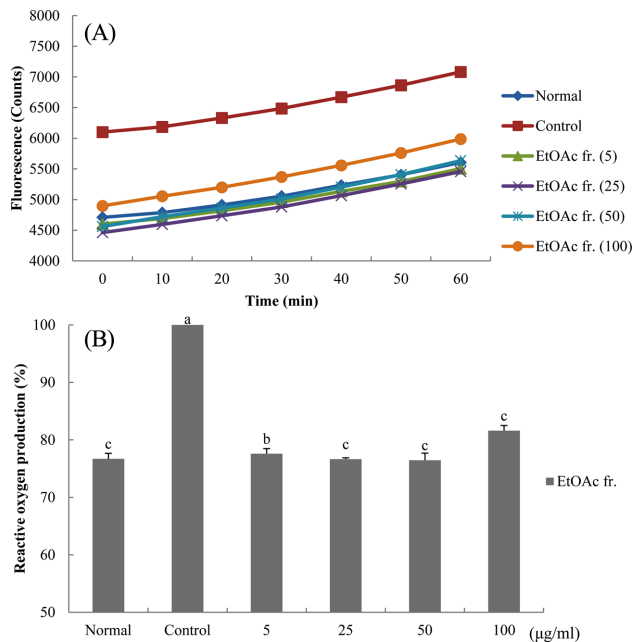


Fig. 2. Effect of the EtOAc fraction from *T. coreanum* on level of ROS in C6 glioma cells treated with H₂O₂ (A: Time course of change in intensity of ROS fluorescence with the EtOAc fraction from *T. coreanum*; B: The production of ROS treated with the EtOAc fraction from *T. coreanum*).

Values are mean ± SD. ^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

적 손상을 일으킨다고 보고되어 있다.²²⁾ C6 glioma cell 세포에 Aβ₂₅₋₃₅를 처리하여 산화적 손상을 유발한 뒤 세포 생존율을 측정해본 결과 대조군이 정상군에 비해 57.47%로 감소한 것을 확인할 수 있었다. 그러나 흰민들레 EtOAc 분획물을 농도 별로 처리한 결과, 농도 유의적으로 세포 생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Table III). 또한, luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)의 Aβ₂₅₋₃₅에 의한 산화적 스트레스 개선효과를 살펴본 결과에서는 대조군이 정상군에 비해 세포 생존율이 70.97%로 감소한 것을 확인할 수 있었다(Table IV). 그러나 활성물질을 처리한 군에서는 세포 생존율이 증가하였으며, 특히 luteolin-7-glucoside(2) 10 µg/ml의 농도에서 96.76%의 가장 높은 생존율을 보여 Aβ₂₅₋₃₅로 인한 독성 보호에 뛰어난 효과가 있는 것으로 생각된다. 따라서, 흰민들레 EtOAc 분획물 및 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)는 Aβ₂₅₋₃₅에 유도되는 세포 안에서 과도하게 발생한 산화적 스트레스에 의한 신경세포사멸에 대한 보호효

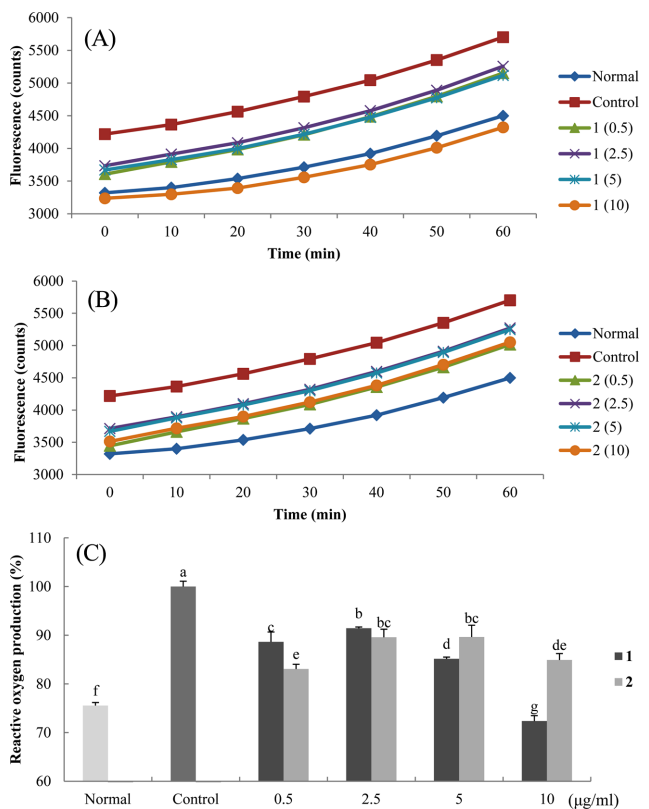


Fig. 3. Effect of luteolin (1) and luteolin-7-glucoside (2) on level of ROS in C6 glioma cells treated with H₂O₂ (A: Time course of change in intensity of ROS fluorescence with 1 from *T. coreanum*; B: Time course of change in intensity of ROS fluorescence with 2 from *T. coreanum*; C: The production of ROS treated with 1 and 2 from *T. coreanum*).

Values are mean ± SD. ^{a-g}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table III. Effect of the EtOAc fraction from *T. coreanum* on cell viability of C6 glioma cells treated with A β_{25-35}

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Cell viability (%)
Normal		100.00 \pm 2.95 ^a
A β_{25-35} -treated Control		57.47 \pm 3.65 ^e
EtOAc fraction	5	54.28 \pm 3.69 ^{de}
	25	60.16 \pm 1.72 ^d
	50	62.35 \pm 4.42 ^c
	100	74.16 \pm 5.02 ^b

Values are mean \pm SD.

^{a-e}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

Table IV. Effect of luteolin (1) and luteolin-7-glucoside (2) on cell viability of C6 glioma cells treated with A β_{25-35}

Treatment	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Cell viability (%)
Normal		100.00 \pm 2.99 ^a
A β_{25-35} -treated Control		70.97 \pm 5.73 ^f
1	0.5	80.62 \pm 2.11 ^e
	2.5	86.39 \pm 1.94 ^{cde}
	5	85.20 \pm 4.34 ^{de}
	10	88.31 \pm 1.27 ^{cd}
2	0.5	85.04 \pm 7.86 ^{de}
	2.5	90.37 \pm 6.89 ^{bcd}
	5	93.54 \pm 6.38 ^{abc}
	10	96.76 \pm 8.04 ^{ab}

Values are mean \pm SD.

^{a-f}Means with the different letters are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

과를 나타내었고, 신경세포 손상을 효과적으로 방어 한 것임을 알 수 있었다.

흰민들레는 *in vitro*와 cellular system에서 ONOO⁻로 유도된 산화적 스트레스 개선효과가 우수하고, 항염증 효과, 지질과산화 억제 효과를 보여 항산화 활성과 퇴행성 질환 예방 효과는 밀접한 상관관계를 가지고 있는 것으로 보고되었다.^{23,24)} 뿐만 아니라, 최근 연구에 따르면, 흰민들레 추출물이 신경전달물질 분해효소인 acetylcholinesterase를 저해함으로써 기억력 개선 효과가 있는 것으로 나타났다.²⁵⁾ 흰민들레로부터 분리된 luteolin(1, IC₅₀=0.15 μM)과 luteolin-7-glucoside(2, IC₅₀=1.05 μM)는 강한 aldose reductase 억제 효능이 있는 것으로 밝혀졌으며,¹⁰⁾ 흰민들레의 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)의 함량은 각각 5.06 mg/g 및 10.75 mg/g이었다.²⁶⁾

선행연구와 본 연구의 결과를 종합해보았을 때, 흰민들레

분획물 및 그 속에 함유되어있는 활성물질 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2)의 항산화력과 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호효과는 Alzheimer와 같은 퇴행성 신경질환의 효과적인 예방 및 치료제로서의 활용 가능성이 높을 것으로 판단된다.

결 론

본 연구는 흰민들레 EtOAc 분획물을 제조하여 신경교종 세포의 일종인 C6 glioma cell에 H₂O₂와 A β_{25-35} 에 의한 산화적 스트레스 보호 효과를 알아보았다. 그 결과 흰민들레 EtOAc 분획물이 H₂O₂와 A β_{25-35} 로부터 유발된 산화적 스트레스에 대해 세포 생존율을 증가시켰으며, ROS생성을 억제시키는 것을 살펴볼 수 있었다. 또한 EtOAc 분획물로부터 분리한 생리활성물질 luteolin(1)과 luteolin-7-glucoside(2) 역시 H₂O₂와 A β_{25-35} 로 유도된 산화적 스트레스 상태에서 세포 생존율의 증가와 ROS 생성의 저해를 나타냄으로써 신경세포 손상에 대하여 우수한 보호 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

사 사

이 논문은 2010년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 기초연구사업 지원을 받아 수행된 것임(2010-0023088).

인용문헌

- Forman, H. J., Dorio, R. J. and Skelton, D. C. (1987) Hydroperoxide-induced damage to alveolar macrophage function and membrane integrity. *Arch. Biochem. Biophys.* **259**: 457-465.
- Scandalios J. G. (1993) Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.* **101**: 7-12.
- Reed, T. T. (2011) Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. *Free Radic. Biol. Med.* **51**: 1302-1319.
- Zhao, B. (2009) Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Neurochem. Res.* **34**: 630-638.
- Kim, J. H., Jeong, C. H., Choi, G. N., Kwak, J. H., Choi, S. G., and Heo, H. J. (2009) Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* using an *in vitro* system. *Korean J. Food Sci. Technol.* **41**: 712-716.
- Chon, S. U. (2012) Antioxidant activity and cytotoxicity of different *Taraxacum* species in Korea. *Korean J. Crop Sci.* **57**: 51-59.
- Sun, Y. L., Kim, J. H., and Hong, S. K. (2011) Establishment of cell suspension cultures and plant regeneration in white

- dandelion (*Taraxacum coreanum* NAKAI). *Korean J. Plant Res.* **24**: 280-285.
8. Koo, H. N., Hong, S. H., Song, B. K., Kim, C. H., Yoo, Y. H., and Kim, H. M. (2004) *Taraxacum officinale* induces cytotoxicity through TNF- α and IL-1 α secretion in Hep G2 cells. *Life Sci.* **74**: 1149-1157.
 9. Im, D. Y. and Lee, K. I. (2011) Antioxidant and antibacterial activity and tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **19**: 238-245.
 10. Mok, S. Y., Lee, S., Kim, H. M., Lee, J. M., Lee, D. G., Ahn, Y. H., Park, C. G., Cho, E. J., and Lee S. (2011) Inhibition of rat lens aldose reductase by flavonoids from dandelion. *Nat. Prod. Sci.* **17**: 130-134.
 11. Lee, D. S., Li, B., Lee, Y. J., Chun, H. J., Ryu, I. H., Jee, Y. J., Chae, G. U., Kwon, Y. S., Shon, J. U., Kang, H. G., Lee, S. H., An, R. B. and Lee, H. S. (2011) Anti-inflammatory effect of extracts from the roots of *Taraxacum coreanum* on lipopolysaccharide-induced inflammation in BV2 cells. *Kor. J. Oral Maxillofac. Pathol.* **35**: 231-238.
 12. Lee, S., Choi, M. J., Choi, J. M., Lee, S., Kim, H. Y. and Cho, E. J. (2012) Flavonoids from *Taraxacum coreanum* protect from radical-induced oxidative damage. *J. Med. Plants Res.* **6**: 5377-5384.
 13. Hu, C. and Kitts, D. D. (2004) Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264.7 cells. *Mol. Cell. Biochem.* **265**: 107-113.
 14. Lee, S., Han, S., Kim, H. M., Lee, J. M., Mok, S. Y., and Lee, S. (2011) Isolation and identification of phytochemical constituents from *Taraxacum coreanum*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **54**: 73-78.
 15. Zaidi, A., Fernandes, D., Bean, J. L., and Michaelis, M. L. (2009) Effects of paraquat-induced oxidative stress on the neuronal plasma membrane Ca²⁺-ATPase. *Free Radic. Biol. Med.* **47**: 1507-1514.
 16. Omodeo-Sale, F., Gramigna, D., and Campaniello, R. (1997) Lipid peroxidation and antioxidant systems in rat brain: effect of chronic alcohol consumption. *Neurochem. Res.* **22**: 577-582.
 17. Pratico, D. (2002) Alzheimer's disease and oxygen radical: new insights. *Biochem. Pharmacol.* **63**: 563-567.
 18. Hardy, J. and Selkoe, D. J. (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science* **297**: 353-356.
 19. Markesbery, W. R. (1997) Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Rad. Biol. Med.* **23**: 134-147.
 20. Cathcart, R., Schwiers, E., and Ames, B. N. (1983) Detection of picomole levels of hydroperoxides using a fluorescent dichlorofluorescein assay. *Anal. Biochem.* **134**: 111-116.
 21. Butterfield, D. A., Drake, J., Pocernich, C., and Castegna, A. (2001) Evidence of oxidative damage in Alzheimer's disease brain: central role of amyloid beta-peptide. *Trends Mol. Med.* **7**: 548-554.
 22. Behl, C., Davis, J. B., Lesley, R., and Schubert, D. (1994) Hydrogen peroxide mediates amyloid β protein toxicity. *Cell* **77**: 817-827.
 23. Choi, J. M., Choi, M. J., Lee, S., Yamabe N., Lee S. and Cho, E. J. (2012) Protective effects of ethylacetate fraction from *Taraxacum coreanum* against peroxynitrite-induced oxidative damage under cellular system. *Cancer Prev. Res.* **17**: 251-256.
 24. Lee, S., Choi, M. J., Choi, J. M., Lee, S., Kim, H. Y. and Cho, E. J. (2012) Flavonoids from *Taraxacum coreanum* protect from radical-induced oxidative damage. *J. Med. Plants Res.* **6**: 5377-5384.
 25. Sohn, M. K. and Shin, Y. W. (2012) A comparative study of memory improving effects of Taraxaci herba on scopolamine-induced amnesia in mouse. *Kor. J. Herbol.* **27**: 27-35.
 26. Lee, S., Han, S., Kim, H. M., Lee, J. M., Kim, J., Park, C. G., and Lee, S. (2011) Simultaneous determination of luteolin and luteoloside in dandelions using HPLC. *Hort. Environ. Biotechnol.* **52**: 536-540.
- (2013. 8. 19 접수; 2013. 8. 30 심사; 2013. 9. 10 게재확정)