

Kaempferol, quercetin 및 그 배당체들의 apoptosis 조절을 통한 신경세포 보호 효과

김지현¹, 이상현², 조은주¹, 김현영^{3*}

¹부산대학교 식품영양학과, ²중앙대학교 식물시스템학과, ³경남과학기술대학교 식품과학부

Neuroprotective Effects of Kaempferol, Quercetin, and Its Glycosides by Regulation of Apoptosis

Ji Hyun Kim¹, Sanghyun Lee², Eun Ju Cho¹, Hyun Young Kim^{3*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

²Department of Integrative Plant Science, Chung-Ang University

³Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology

요약 알츠하이머 질환은 대표적인 신경퇴행성 질환으로, 뇌 내에서 A β 단백질 축적은 알츠하이머 질환의 원인으로 알려져 있다. 본 연구에서는 amyloid beta (A β)로 손상을 유도한 SH-SY5Y 신경세포에서 kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, quercetin-3- β -D-glucoside의 신경세포 보호 효과에 대해 검토하였다. SH-SY5Y 신경세포에 A β ₂₅₋₃₅ (25 μ M)를 처리하였을 때, 처리하지 않은 normal군에 비해 세포생존율이 유의적으로 감소하였다. 반면, kaempferol, quercetin 및 그 배당체들을 각각 처리하였을 때 A β ₂₅₋₃₅만을 처리한 control군에 비해 유의적으로 세포생존율의 증가를 나타내었다. 또한, apoptosis에 관여하는 cleaved caspase9, Bcl-2-associated X protein (Bax) 단백질 발현을 측정된 결과, normal군에 비해 control군에서 유의적으로 cleaved caspase9 및 Bax 단백질 발현의 증가를 나타내어 A β 유도 신경세포 손상으로 인한 apoptosis가 유발됨을 확인하였으며, kaempferol, quercetin 및 그 배당체들의 처리 시 apoptosis 관련 단백질 발현이 감소함으로써 신경세포 보호 효과가 나타남을 확인하였다. 이러한 결과는 kaempferol, quercetin 및 그 배당체들이 apoptosis 조절을 통해 신경세포 보호 효과를 나타내며, 신경세포 손상으로 인한 알츠하이머 질환을 예방하는 유용한 소재로써 사용 가능성이 있음을 보여준다.

Abstract Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disease caused by accumulation of amyloid beta (A β) in the brain. In the present study, we investigated the neuroprotective effects of four flavonoids such as kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, and quercetin-3- β -D-glucoside against neuronal apoptosis induced by A β in SH-SY5Y neuronal cells. Treatment with A β decreased cell viability compared to the non-treated normal group. However, treatment with the four flavonoids increased cell viability in SH-SY5Y cells treated with A β . In addition, we measured the expression of apoptosis-related proteins such as Bcl-2-associated X protein (Bax) and cleaved caspase-9. Treatment with the four flavonoids down-regulated Bax and cleaved caspase-9 in A β -treated SH-SY5Y neuronal cells. Overall, the results of the present study demonstrated the neuroprotective effect of flavonoids by anti-apoptotic activity in A β -induced SH-SY5Y neuronal cells. These results suggest that these four flavonoids would be useful therapeutic and prevention agents for AD.

Keywords : Amyloid beta, Kaempferol, Kaempferol-3-O-glucoside, Quercetin, Quercetin-3- β -D-glucoside

*Corresponding Author: Hyun Young Kim(Gyeongnam National Univ. of Science and Technology)

Tel: +82-55-751-3277 email: hykim@gntech.ac.kr

Received November 6, 2018

Revised (1st November 21, 2018, 2nd December 17, 2018)

Accepted February 1, 2019

Published February 28, 2019

1. 서론

알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)은 노화에 따른 대표적인 신경퇴행성 질환으로, 기억력, 학습능력, 인지능력 손상 등의 특징을 나타낸다[1]. 아밀로이드 베타(amyloid beta; A β)는 알츠하이머 질환의 대표적인 원인으로 알려지고 있다[2]. 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein)로부터 β -secretase, γ -secretase에 의해 생성되는 A β 단백질은 과다 생성 시에 뇌 내에서 응집되어 A β plaque를 형성한다[2]. 형성된 A β plaque는 뇌 내에서 활성산소종(reactive oxygen species; ROS) 및 활성질소종(reactive nitrogen species; RNS)을 과생성시켜 산화적 스트레스(oxidative stress)의 원인이 되는 것으로 알려져 있다[3]. 특히 산화적 스트레스로 인한 신경세포막의 지질과산화(lipid peroxidation)는 cleaved caspase-9, Bax 등의 pro-apoptosis 인자 발현을 증가시키고, 이는 뇌 신경세포 사멸(apoptosis)을 일으키는 것으로 보고되었다[4,5]. 따라서 알츠하이머 질환의 예방 및 치료를 위해, 독성과 부작용이 적으면서 항산화 활성을 지닌 천연물 유래 소재들의 A β 로 손상된 뇌 신경세포에서의 신경세포 보호 효과에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[6].

Kaempferol, quercetin과 같은 flavonoid 계열의 활성 성분은 머위, 은행잎 등의 다양한 천연식물에 함유되어 있으며, 이들은 체내에서 항산화, 항염증 등의 생리활성을 조절하는 것으로 알려져 있다[7-9]. Kaempferol은 A β 로 신경독성을 유도한 PC12 신경세포에서의 신경세포 보호 효과가 보고되었다[10]. Kaempferol-3-O-glucoside는 kaempferol에 glucoside 당이 붙은 배당체 형태이며, 뇌 손상 동물 모델에서 염증반응 조절을 통한 신경교세포 보호 효능이 보고되었다[11]. 또한, quercetin은 알츠하이머 질환 동물 모델 또는 A β 유도 세포 손상에 대한 신경세포 보호 효과 등이 규명됨에 따라 신경퇴행성 질환에 대한 예방 및 치료 효능이 보고되었으며[12-14], quercetin의 배당체 형태인 quercetin-3- β -D-glucoside은 지질과산화 억제를 통한 SH-SY5Y 신경세포에서의 산화적 스트레스 개선 효과가 보고되었다[15].

그러나 kaempferol, quercetin 및 그 배당체의 A β 손상을 유도한 신경세포에서 보호 효과에 대한 비교 분석 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 kaempferol과 그 배당체인 kaempferol-3-O-glucoside,

quercetin과 그 배당체인 quercetin-3- β -D-glucoside의 총 4가지 활성성분의 A β 유도 SH-SY5Y 신경세포에서 apoptosis 조절을 통한 신경세포 보호 효과에 대해 알아 보았다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

실험에 사용한 kaempferol, quercetin, quercetin-3- β -D-glucoside는 Sigma chemical Co. (St Louis, MO, USA)에서 kaempferol-3-O-glucoside는 Extrasynthese (Genay, France)사에서 구매하여 사용하였다. 각 활성성분의 구조는 Fig. 1과 같다.

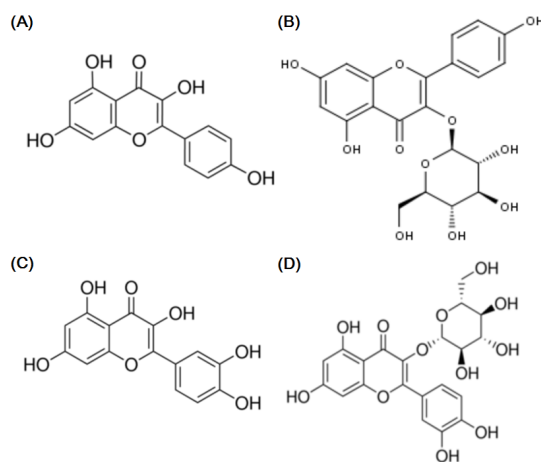


Fig. 1. Chemical structure of kaempferol (A), kaempferol-3-O-glucoside (B), quercetin (C), quercetin-3- β -D-glucoside (D)

2.2 시약

SH-SY5Y 신경세포는 한국 세포주 은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 구입하였다. 세포 배양을 위한 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) 배지, fetal bovine serum (FBS), 100 units/mL penicillin streptomycin, trypsin EDTA 시약은 Welgene (Daegu, Korea)에서 구입하여 세포 배양에 사용하였다. A β ₂₅₋₃₅는 Sigma chemical Co. (St Louis, MO, USA)에서 구매하여, 37°C에서 72시간 동안 응집시켜 실험에 사용하였다. 세포 생존율 측정에 사용한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,

5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)는 Bio Basic (Roronto, Canada)에서, dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Bio Pure (Ontario, Canada)사에서 구입하여 사용하였다. Western blotting에 사용한 RIPA buffer는 Elpis Biotech. (Daejeon, Korea)에서, polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane은 Millipore (Billerica, MA, USA)에서, cleaved caspase 9와 2차 항체는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA)에서, Bax는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, MA, USA)에서, enhanced chemiluminescence (ECL)는 Bio-Rad (Hercules, USA)사에서 구입하여 실험에 사용하였다.

2.3 세포 배양

SH-SY5Y 신경세포는 100 units/mL의 penicillin streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 DMEM 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였으며, 배양된 세포는 2~3일에 한 번씩 배양액을 바꾸어 주면서 배양시켰다. 세포 분화가 80% 이상 도달하였을 때 phosphate buffered saline (pH 7.4)으로 부착된 세포를 세척한 뒤, 0.02% EDTA가 함유된 0.05% trypsin으로 부착된 세포를 분리하여 1,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 세포를 집적시킨 뒤, 배지에 넣고 골고루 분산시켜 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

2.4 세포 생존율 측정

세포가 80% 이상 confluence 상태가 되면 96 well plate에 5×10⁴ cells/mL로 세포를 seeding하여 37°C에서 배양하여 세포를 부착시켰다. 24시간 뒤, 시료를 농도별 (0.25, 0.5, 1 μM)로 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator 내에서 4시간 배양시키고, 그 뒤 세포의 손상을 유도하기 위하여 Aβ₂₅₋₃₅를 25 μM의 농도로 처리하여 동일한 조건에서 배양시켰다. 24시간 배양한 뒤, 각 well의 배지를 제거하고, 5 mg/mL의 MTT solution 200 μL를 각 well에 주입한 뒤 재배양하였다. 4시간 뒤, 생성된 보라색의 formazan 결정을 200 μL의 DMSO에 녹여 30분간 실온에서 방치 후, microplate reader(Termo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[16].

2.5 Western blotting

100 mm-cell culture dish에 1×10⁶ cells/mL로

seeding하여 24시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator 내에서 배양시켰다. 이 후, 부착된 세포에 각 시료를 1 μM의 농도로 처리하여 4시간 배양한 뒤, 신경세포 손상을 유도하기 위해 Aβ₂₅₋₃₅를 25 μM의 농도로 처리하였다. 24 시간 뒤, 배양한 세포에 RIPA buffer를 첨가하여 4°C, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 상층액을 e-tube로 옮겼다. 상층액은 Bio-Rad protein assay kit를 이용하여 단백질 정량을 실시하였다. 각 시료를 10%의 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)에서 80V로 전기영동한 뒤, PVDF membrane에 100V에서 2시간동안 transfer하였다. 그 뒤, membrane을 5% skim milk를 이용하여 실온에서 1 시간동안 blocking하여 각각 1:200의 농도로 희석한 cleaved caspase9 또는 Bax를 1차 항체를 4°C에서 overnight 반응시켰다. 이후, 1:500으로 희석한 2차 항체와 실온에서 1시간 반응시킨 뒤, 동량으로 희석한 ECL solution을 가하여 발광시켜 Chemiluminescence image system (Davinch-Chemi™)을 이용하여 단백질 발현을 확인하였다.

2.6 통계분석

모든 실험에서 나온 대조군과 각 시료들로부터 얻은 결과들은 평균 ± 표준편차로 나타내었고, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 프로그램을 이용하여 각 실험 결과로부터 analysis of variance (ANOVA)를 구한 후 Duncan's multiple test(P<0.05)를 이용하여 각 군의 평균 간의 유의성 검정을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Kaempferol, quercetin 및 그 배당체들의 세포생존율 개선 효과

Aβ는 39-42개의 아미노산 펩타이드로 구성되어 있으며, 그 중 Aβ₂₅₋₃₅는 full-length Aβ와 유사한 독성을 나타내는 것으로 보고되었다[2]. 이전 연구들에 의하면, 뇌 신경세포에서 Aβ₂₅₋₃₅의 처리는 신경세포 주위에 축적되어 독성을 일으키며, 산화적 스트레스, 염증반응 (inflammation) 뿐만 아니라 뇌 신경세포의 사멸을 유도하여 알츠하이머 질환을 유발하는 것으로 보고되었다 [17].

먼저 SH-SY5Y 세포에 kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, quercetin-3-β-D-glucoside를 0.5, 1, 2.5, 5 μM의 농도로 각각 처리하였을 때, 5 μM의 농도까지 90% 이상의 세포 생존율을 나타냄을 확인하여 본 실험농도를 설정하여 실험을 진행하였다(data not shown). Aβ₂₅₋₃₅의 처리로 신경세포 손상을 유도한 SH-SY5Y 세포에서 kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, quercetin-3-β-D-glucoside를 각각 처리하여 세포 생존율을 측정을 통해 4가지 flavonoids의 SH-SY5Y 신경세포 보호 효과를 살펴보았다 (Table 1).

아무것도 처리하지 않은 normal군을 100%라고 하였을 때, Aβ₂₅₋₃₅만을 처리한 군의 경우 58.31%의 낮은 세포 생존율을 나타내어 SH-SY5Y 신경세포에서 Aβ₂₅₋₃₅로 인한 세포 손상을 확인하였다. 반면, kaempferol 및 그 배당체인 kaempferol-3-O-glucoside 처리 군의 세포 생존율 측정 결과를 비교하여 보았을 때, kaempferol 또는 kaempferol-3-O-glucoside를 각각 0.25, 0.5, 1 μM의 농도로 처리 시 모든 군에서 60% 이상의 세포 생존율을 나타내었다. 특히, 0.25, 0.5 μM의 농도의 경우, kaempferol에 비해 kaempferol 배당체인 kaempferol-3-O-glucoside를 처리한 군에서 유의적으로 높은 세포 생존율을 나타내었다. Quercetin 또는 quercetin-3-β-D-glucoside를 각각 처리하였을 때 모든 농도에서 Aβ₂₅₋₃₅만을 처리한 control군에 비해 유의적으로 높은 세포 생존율을 나타내었다. 특히, 모든 농도에서 quercetin 처리 군에 비해 quercetin-3-β-D-glucoside 처리 군에서 높은 세포 생존율을 나타내었다. 뿐만 아니라, quercetin-3-β-D-glucoside는 0.25, 0.5 μM의 농도에서 각각 70.33%, 69.15%의 우수한 세포 생존율을 나타내어 Aβ₂₅₋₃₅ 유도 신경세포 손상에 대한 보호 효과를 확인하였다.

따라서 kaempferol 및 그 배당체인 kaempferol-3-O-glucoside와 quercetin 및 그 배당체인 quercetin-3-β-D-glucoside는 Aβ₂₅₋₃₅로 손상을 유도한 신경세포에서 세포 생존율 증가를 통해 Aβ₂₅₋₃₅로 손상을 유도한 신경세포에서의 보호 효능이 있는 것으로 생각되며, 특히 kaempferol, quercetin과 같은 aglycone에 비해 배당체에서 신경세포 보호 활성이 높음을 확인하였다.

Table 1. Effect of kaempferol, quercetin and its glycosides on cell viability of SH-SY5Y cells treated with Aβ₂₅₋₃₅

| Treatment (μM) | Cell viability (%) | |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Normal | 100.00 ± 0.40 ^a | |
| Aβ ₂₅₋₃₅ -treated control | 58.31 ± 1.23 ^d | |
| Kaempferol | 0.25 | 62.16 ± 0.27 ^c |
| | 0.5 | 62.47 ± 0.67 ^c |
| | 1 | 62.61 ± 1.11 ^c |
| Kaempferol-3-O-glucoside | 0.25 | 66.15 ± 0.27 ^b |
| | 0.5 | 66.16 ± 1.16 ^b |
| | 1 | 62.69 ± 1.60 ^c |
| Quercetin | 0.25 | 64.69 ± 0.70 ^{cd} |
| | 0.5 | 65.95 ± 0.86 ^c |
| | 1 | 63.75 ± 2.27 ^d |
| Quercetin-3-β-D-glucoside | 0.25 | 70.33 ± 0.75 ^b |
| | 0.5 | 69.15 ± 1.03 ^b |
| | 1 | 64.92 ± 1.60 ^{cd} |

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

3.2 Kaempferol, quercetin 및 그 배당체들의 apoptosis 개선 효과

뇌에서 Aβ의 과발현은 caspase pathway의 활성화와 Bcl family 조절을 통해 신경세포 사멸을 일으킨다[18]. Bcl family 중 일종인 Bax 단백질은 pro-apoptosis 인자로써, 세포 손상 시 과발현되어 세포사멸을 촉진한다[19]. 이는 세포 내 미토콘드리아(mitochondria)에서 cytochrome c 방출을 증가시켜 caspase pathway를 활성화 시키는데, 이 때 caspase-9는 cleaved caspase-9 형태로 분리되면서 apoptosis를 유발한다[20]. 또한, 천연물 유래 소재의 Aβ 유도 신경독성에 대한 신경세포 보호 관련 연구에서도 Bax, caspase-9의 단백질 발현 측정을 통해 apoptosis 보호 기전 규명 연구가 보고되었다[5,21].

Aβ₂₅₋₃₅ 유도 신경세포 사멸에 대한 보호 기전을 규명하기 위해, apoptosis에 관여하는 단백질인 cleaved caspase-9과 Bax 단백질 발현을 측정하였다 (Fig. 2). Aβ₂₅₋₃₅로 산화적 손상을 유도한 control군은 아무것도 처리하지 않은 normal군에 비해 cleaved caspase-9과 Bax 단백질 발현을 유의적으로 증가시켰다. 반면 kaempferol 및 kaempferol-3-O-glucoside를 1 μM의 농도로 처리하였을 경우, apoptosis에 관여하는 단백질인 cleaved caspase-9과 Bax 단백질 발현의 유의한 감소를 통해

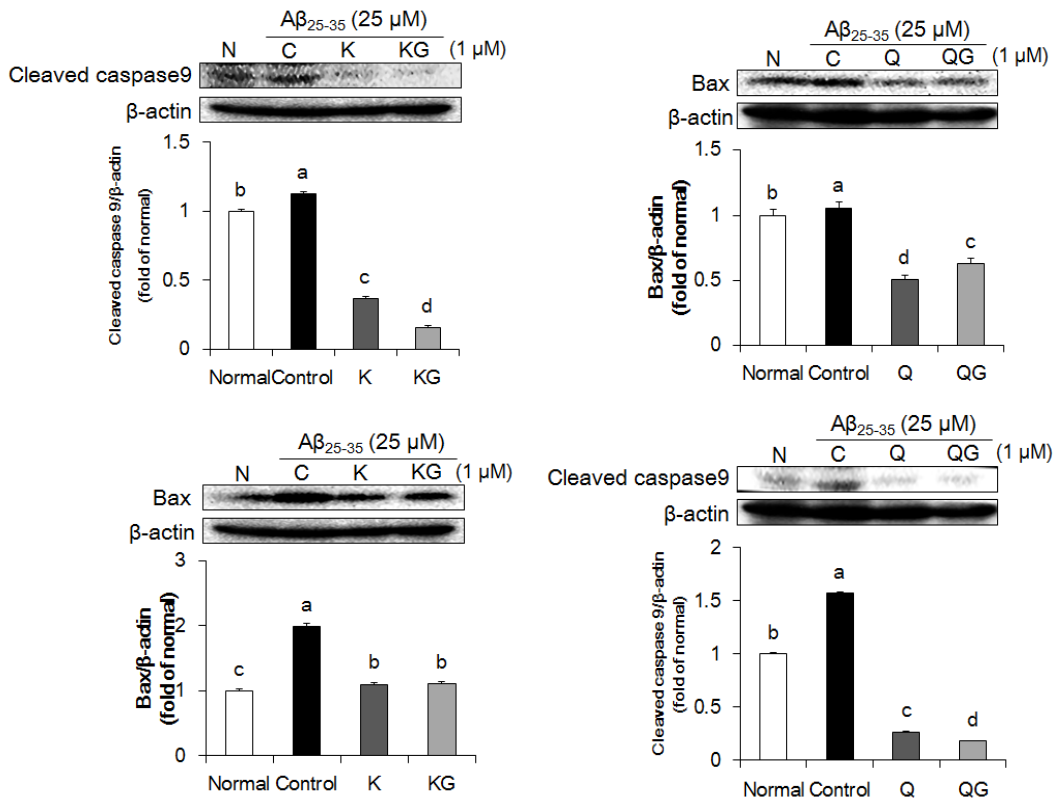


Fig. 2. Effect of kaempferol (K), kaempferol-3-O-glucoside (KG), quercetin (Q), and quercetin-3-β-D-glucoside(QG) on apoptosis-related protein expression in SH-SY5Y cells treated with Aβ₂₅₋₃₅. Values are mean ± SD. ^{a-d}Means with the different letters are significantly different (*P*<0.05) by Duncan's multiple range test. N:normal group; C:control group; K:kaempferol; KG:kaempferol-3-O-glucoside

apoptosis에 조절을 통한 신경세포 보호 효과를 확인하였다. Quercetin 및 quercetin-3-β-D-glucoside를 1 μM의 농도로 각각 처리하여 단백질 발현 측정을 통해 apoptosis 조절 기전을 확인한 결과, control군에 비해 quercetin과 배당체인 quercetin-3-β-D-glucoside 처리군에서 cleaved caspase-9과 Bax 단백질 발현의 유의한 감소를 통해 apoptosis에 대한 보호 효과를 확인하였다.

따라서 본 연구결과를 통해 kaempferol, quercetin 및 그 배당체들은 pro-apoptosis인자인 cleaved caspase-9와 Bax 단백질 발현 억제를 통해 Aβ로 유도된 SH-SY5Y 신경세포의 apoptosis를 억제함을 확인하였다.

이전 연구에 의하면, Aβ의 처리로 신경독성을 유도한 신경세포에서 kaempferol은 pro-apoptosis 인자인 caspase-2, -8, -9 단백질 발현 감소를 나타내었고, kaempferol-3-O-glucoside는 세포생존율의 증가를 통한

신경세포 보호 효능이 보고되었으며[22,23,24], Quercetin 또한 Aβ로 손상된 신경세포에서 caspase 활성화 감소와 cleavage of poly (ADP-ribose) polymerase 발현 억제를 나타내어 Aβ에 대한 신경세포 보호 효과를 확인하였다 [25,26]. Quercetin-3-β-D-glucoside의 경우, Aβ에 대한 apoptosis 관련 연구는 미흡한 실정이나, 산화적 손상을 유도한 신경세포에서의 apoptosis 조절을 통한 신경세포 보호 효능이 규명되어져 있다[27].

4. 결론 및 요약

알츠하이머 질환은 대표적인 신경퇴행성 질환으로, 뇌 내에서 Aβ 단백질 축적은 알츠하이머 질환의 원인으로 알려져 있다. Aβ로 손상을 유도한 신경세포에서

kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, quercetin- β -D-glucoside의 신경세포 보호 효능을 검토 하였다. 그 결과 각각의 활성물질은 A β 만을 처리한 control군에 비해 유의적으로 세포생존율의 증가를 나타 내었다. 뿐만 아니라, kaempferol, kaempferol-3-O-glucoside, quercetin, quercetin- β -D-glucoside는 control군에 비해 cleaved caspase-9와 Bax 단백질 발현을 50% 이상 감소 시켜 A β 로 유도된 SH-SY5Y 신경세포의 apoptosis를 억제함으로써 신경세포를 보호하는 것으로 보이며, 이러한 결과들은 flavonoid 계열의 활성성분인 kaempferol, quercetin이 신경퇴행성 질환의 유용한 소재로 이용 될 수 있음을 시사한다.

References

- [1] D. L. Bachman, P. A. Wolf, R. T. Linn, J. E. Knoefel, J. L. Cobb, A. J. Belanger, L. R. White, R. B. D'Agostino. "Incidence of dementia and probable Alzheimers disease in a general population: the Framingham Study.", *Neurology*, Vol.43, No.3 Pt 1 pp.515-519, 1993.
DOI: http://dx.doi.org/10.1212/WNL.43.3_Part_1.515
- [2] D. J. Selkoe. "Alzheimer's disease: a central role for amyloid.", *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, Vol.53, No.5 pp.437-447, 1994.
DOI: <https://doi.org/10.1097/00005072-199409000-00003>
- [3] A. Nunomura, R. J. Castellani, X. Zhu, P. I. Moreira, G. Perry, M. A. Smith. "Involvement of oxidative stress in Alzheimer disease.", *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, Vol.65, No.7 pp.631-641, 2006.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/01.jnen.0000228136.58062.bf>
- [4] M. Vila, S. Przedborski. "Targeting programmed cell death in neurodegenerative diseases.", *Nature Reviews Neuroscience*, Vol.4, No.5 pp.365-375, 2003.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/nrn1100>
- [5] H. Badshah, T. H. Kim, M. O. Kim. "Protective effects of anthocyanins against amyloid beta-induced neurotoxicity *in vivo* and *in vitro*.", *Neurochemistry International*, Vol.80 pp.51-59, 2015.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.neuint.2014.10.009>
- [6] D. Y. Choi, Y. J. Lee, J. T. Hong, H. J. Lee. "Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimers disease." *Brain Research Bulletin*, Vol.87, No.2-3 pp.144-153, 2012.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2011.11.014>
- [7] G. B. Gonzales, K. Raes, S. Coelus, K. Struijs, G. Smagghe, J. Van Camp. "Ultra(high)-pressure liquid chromatography-electrospray ionization-time-of-flight-ion mobility-high definition mass spectrometry for the rapid identification and structural characterization of flavonoid glycosides from cauliflower waste.", *Journal of Chromatography*, Vol.1323 pp.39-48, 2014.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2013.10.077>
- [8] D. G. Lee, K. H. Lee, K. W. Park, C. K. Han, B. Y. Ryu, E. J. Cho, S. Lee. "Isolation and identification of flavonoids with aldose reductase inhibitory activity from *Petasites japonicus*.", *Asian Journal of Chemistry*, Vol.27, No.3 pp.991-994, 2015.
DOI: <https://dx.doi.org/10.14233/ajchem.2015.17845>
- [9] J. W. Kang, J. H. Kim, K. Song, S. H. Kim, J. H. Yoon, K. S. Kim. "Kaempferol and quercetin, components of Ginkgo biloba extract (EGb 761), induced caspase-3-dependent apoptosis in oral cavity cancer cells.", *Phytotherapy Research*, Vol.24, No.1 pp.S77-82, 2010.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/ptr.2913>
- [10] A. Roth, W. Schaffner, C. Hertel. "Phytoestrogen kaempferol (3,4',5,7-tetrahydroxyflavone) protects PC12 and T47D cells from beta-amyloid-induced toxicity.", *Journal of Neuroscience Research*, Vol.57, No.3 pp.399-404, 1999.
DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990801\)57:3<399::AID-JNR12>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990801)57:3<399::AID-JNR12>3.0.CO;2-W)
- [11] L. Yu, C. Chen, L. F. Wang, X. Kuang, K. Liu, H. Zhang, J. R. Du. "Neuroprotective effect of kaempferol glycosides against brain injury and neuroinflammation by inhibiting the activation of NF- κ B and STAT3 in transient focal stroke.", *Plos One*, Vol.8, No.2 pp.e55839, 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055839>
- [12] A. M. Sabogal-Guáqueta, J. I. Muñoz-Manco, J. R. Ramírez-Pineda, M. Lamprea-Rodríguez, E. Osorio, G. P. Cardona-Gómez. "The flavonoid quercetin ameliorates Alzheimers disease pathology and protects cognitive and emotional function in aged triple transgenic Alzheimers disease model mice.", *Neuropharmacology*. Vol.93 pp.134-145, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.01.027>
- [13] Y. Li, S. Zhou, J. Li, Y. Sun, H. Hasimu, R. Liu, T. Zhang. "Quercetin protects human brain microvascular endothelial cells from fibrillar β -amyloid1-40-induced toxicity.", *Acta Pharmaceutica Sinica B*, Vol.5, No.1 pp.47-54, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2014.12.003>
- [14] M. A. Ansari, H. M. Abdul, G. Joshi, W. O. Opii, D. A. Butterfield. "Protective effect of quercetin in primary neurons against Abeta(1-42): relevance to Alzheimers disease.", *Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol.20, No.4 pp.269-275, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.03.002>
- [15] R. Soundararajan, A. D. Wishart, H. P. Rupasinghe, M. Arcellana-Panlilio, C. M. Nelson, M. Mayne, G. X. Robertson. "Quercetin 3-glucoside protects neuroblastoma (SH-SY5Y) cells *in vitro* against oxidative damage by inducing sterol regulatory element-binding protein-2-mediated cholesterol biosynthesis.", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.283, No.4 pp.2231-2245, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M703583200>
- [16] T. Mosmann. "Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays.", *Journal of Immunological Methods*, Vol.65, No.1-2 pp.55-63, 1983.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- [17] Y. Yamaguchi, S. Kawashima. "Effects of amyloid-beta-(25-35) on passive avoidance, radial-arm

maze learning and choline acetyltransferase activity in the rat.”, *European Journal of Pharmacology*, Vol.412, No.3 pp.265-272, 2001.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)00730-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)00730-0)

[18] D. T. Loo, A. Copani, C. J. Pike, E. R. Whitemore, A. J. Walencewicz, C. W. Cotman. “Apoptosis is induced by beta-amyloid in cultured central nervous system neurons.”, *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, Vol.90, No.17 pp.7951-7955, 1993.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.7951>

[19] A. Takahashi, A. Masuda, M. Sun, V. E. Centonze, B. Herman. “Oxidative stress-induced apoptosis is associated with alterations in mitochondrial caspase activity and Bcl-2-dependent alterations in mitochondrial pH (pHm).”, *Brain Research Bulletin*, Vol.62, No.6 pp.497-504, 2004.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.brainresbull.2003.07.009>

[20] N. A. Abramova, D. S. Cassarino, S. M. Khan, T. W. Painter, J. P. Bennett Jr. “Inhibition by R(+) or S(-) pramipexole of caspase activation and cell death induced by methylpyridinium ion or beta amyloid peptide in SH-SY5Y neuroblastoma.”, *Journal of Neuroscience Research*, Vol.67, No.4 pp.494-500, 2002.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/jnr.10127>

[21] S. Thummayot, C. Tocharus, D. Pinkaew, K. Viwatpinyo, K. Sringarm, J. Tocharus. Neuroprotective effect of purple rice extract and its constituent against amyloid beta-induced neuronal cell death in SK-N-SH cells. *Neurotoxicology*, Vol.45 pp.149-158, 2014.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2014.10.010>

[22] C. N. Wang, C. W. Chi, Y. L. Lin, C. F. Chen, Y. J. Shiao. “The neuroprotective effects of phytoestrogens on amyloid beta protein-induced toxicity are mediated by abrogating the activation of caspase cascade in rat cortical neurons.”, *Journal of Biological Chemistry*, Vol.276, No.7 pp.5287-5295, 2001.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1074/jbc.M006406200>

[23] K. M. Pate, M. Rogers, J. W. Reed, N. M. Van Der, S. Z. Vance, M. A. Moss. “Anthoxanthin polyphenols attenuate Aβ oligomer-induced neuronal responses associated with Alzheimer’s disease.”, *CNS Neuroscience & Therapeutics*, Vol.23, No.2 pp.135-144, 2017.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1111/cns.12659>

[24] P. Khaengkhan, Y. Nishikaze, T. Niidome, K. Kanaori, K. Tajima, M. Ichida, S. Harada, H. Sugimoto, K. Kamei. “Identification of an anti-amyloidogenic substance from mulberry leaves.”, *NeuroReport*, Vol.20, No.13 pp.1214-1218, 2009.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1097/WNR.0b013e32832fa645>

[25] C. Shi, L. Zhao, B. Zhu, Q. Li, D. T. Yew, Z. Yao, J. Xu. “Protective effects of Ginkgo biloba extract (EGb761) and its constituents quercetin and ginkgolide B against beta-amyloid peptide-induced toxicity in SH-SY5Y cells.”, *Chemistry Biological Interactions*, Vol.181, No.1 pp.115-123, 2009.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2009.05.010>

[26] M. A. Ansari, H. M. Abdul, G. Joshi, W. O. Opii, D. A. Butterfield. “Protective effect of quercetin in primary neurons against Abeta(1-42): relevance to Alzheimer’s disease.”, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, Vol.20, No.4 pp.267-275, 2009.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2008.03.002>

[27] Y. Dai, H. Zhang, J. Zhang, M. Yan. “Isoquercetin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis after ischemia/reperfusion injury via Nrf2-mediated inhibition of the NOX4/ROS/NF-κB pathway.”, *Chemico-Biological Interactions*, Vol.284 pp.32-40, 2018.
DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.017>

김 지 현(Ji Hyun Kim)

[정회원]



- 2010년 2월 : 동의대학교 식품영양학과 (학사)
- 2014년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 2016년 3월 ~ 현재 : 부산대학교 식품영양학과 (박사과정)

<관심분야>
식품영양

이 상 현(Sanghyun Lee)

[정회원]



- 1988년 2월 : 경북대학교 농학과 (농학, 석사)
- 1997년 2월 : 서울대학교 약학과 (약학박사)
- 2005년 3월 : 인제대학교 바이오헬스소제연구센터 (연구교수)
- 2005년 9월 ~ 현재 : 중앙대학교 생명자원공학부 식물시스템학과 (교수)

<관심분야>
식물활성성분분리

조 은 주(Eun Ju Cho)

[정회원]



- 1994년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 1996년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (박사)
- 1999년 4월 : 일본 토야마의약과대학교 객원연구원
- 2004년 ~ 현재 : 부산대학교 식품영양학과 (교수)

<관심분야>
식품영양, 기능성식품

김 현 영(Hyun Young Kim)

[정회원]



- 1994년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 2002년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (박사)
- 2008년 ~ 현재 : 경남과학기술대학교 식품과학부 교수

<관심분야>

식품영양, 항산화기능성탐색