후코이단에 의한 니코틴의 코티닌 전환 효과

이 경 호 · *이 기 형*

종근당, *공주대학교 산업과학대학

Conversion Effect to Cotinine from Nicotine by Fucoidan

Keyong Ho Lee and *Ki-Hyeong Rhee*

CKD Research Institute, Chong Kun Dang Pharm., Yongin 449-797, Korea

*College of Industrial Sciences, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea

Abstract

This study aims to find the correlation the low-molecule fucoidan for cancer prevention with an accelerated formation of cotinine. In the presence of fucoidan, a nicotine to cotinine conversion was studied in established assay, direct mixture method and Hep-G2 cell line method. Fucoidan of 1 µg/mL showed the potential effect for converting nicotine to cotinine in the direct mixture method compared to control. Increase of conversion rate at the treatment of fucoidan is exhibited as 15 times compared to control. In Hep-G2 cell treatment, fucoidan showed the potential activity for converting nicotine to cotinine as 6 times compared to control. Therefore, fucoidan was shown to be effective in the conversion of nicotine into cotinine even though it is not higher content of polyphenol and flavonoid than its of green tea extract.

Key words: nicotine, cotinine, fucoidan, green tea

서 론

금단 증상이란 니코틴(nicotine) 등과 같은 중독성 물질의 장기노출 후, 강제로 노출되지 않을 경우, 분노, 짜증, 좌절, 불안, 중독물질에 대한 갈망, 정신집중 저하, 안절부절, 졸음, 피로감, 업무 수행능력 저하, 수면 장애, 우울 및 심박수 감소 등의 현상을 말한다(Schroeder SA 2005). 담배에는 여러 종류의 nicotine, normicotine, anabasine, anatabine 등과 같은 alkaloid류 화학물질들이 존재하며, 중독성을 갖는 주요 물질로는 nicotine이 대표적이다(Saitoh 등 1985; Steinberg 등 2006). 담배의 성분들은 일반적으로 인체에 해롭다고 알려져 있으며, 그 주요 원인 물질은 nicotine으로 보고되고 있다(Huang 등 2012; Sridharan 등 2011; Thäle & Schlitt 2011). 체내에 흡입된 nicotine의 70~80% 정도는 cotinine으로 전환되어 뇨 중으로 배출된다(Byrd 등 1992; Caldwell 등 1992). 또한 이러한 nicotine의 cotinine으로의 전환은 nicotine 중간 대사산물 중에서 강력한 발암물질

인 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone(NNK)로의 대사를 상대적으로 억제하여 폐종양의 발생을 감소시키는 것으로 보고되었다(Brown 등 1999; Brunnemann & Hoffmann 1991). 천연물을 이용한 nicotine의 분해능 보고로는 페놀 화합물이나 플라보노이드류가 포함된 녹차 추출물 및 녹차를 포함한 길경, 황기, 오미자 등의 천연허브들을 이용한 연구보고가 알려져 있다(Kyung & Lee 등 2000; Kim 등 2002; Park 등 2003).

미역 및 다시마와 같은 해조류는 알긴산과 같은 다당류가 포함되어 있고, 알긴산의 경우는 체내의 중금속을 체외로 배출하는 효능이 있는 것으로 알려져 있다(Heinze 등 1993; Jang 등 1995). 해조류의 성분 중 최근에 생리활성이 알려진 것으로는 fucoidan이 있다. Fucoidan은 *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus* 등과 같은 갈조류의 대표적인 성분으로 황을 함유하고 있는 다당류이다. Fucoidan은 구조적으로 헤파린과 유사하며, 실제 헤파린이 가지는 항혈전 작용이 알려져 있다(Berteau & Mulloy 2003). 또한 fucoidan은 macrophage 세포주

* Corresponding author: Ki-Hyeong Rhee, College of Industrial Sciences, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea.
Tel: +82-41-330-1626, Fax: +82-41-330-1629, E-mail: howard@kongju.ac.kr

인 RAW264.7에서 lipopolysaccharide에 의한 nitric oxide의 생성과 유도형 nitric oxide synthase의 발현을 억제 효과가 보고되었다(Yang 등 2006). 그 밖으로는 자살세포(apoptosis) 유도에 의한 항암효과, 항바이러스(항-HIV 포함), 항종양성, 항산화작용 등이 있다(Fortun 등 2001; Mauray 등 1998; Saito 등 2006; Tatiana 등 1998).

본 연구에서는 nicotine의 cotinine의 전환연구가 전무한 후코이단을 이용하여 nicotine의 cotinine 전환 효과 및 항산화 효과를 측정하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 후코이단 시료 조제

후코이단 추출을 위한 미역 포자엽은 완도산 미역 포자엽을 이용하였다. 미역 포자엽 100 g을 1,000 mL 증류수에 투입 후, 100°C에서 2시간 교반하여 포자엽에서 다당을 추출하였다. 추출된 다당에서 후코이단은 먼저 알긴산을 분리·제거하여 남은 것을 후코이단의 시료로 이용하였다. 알긴산만 선택적으로 제거하기 위해 여과액에 50 mM CaCl₂ 용액을 가하여 겔화될 알긴산을 원심분리(Hanil, Supra 22K, 한국)로 제거하였다. 알긴산을 제거하고 남은 여과액을 한외여과장치(Pall, SLP-3053)에서 탈염 처리하여 후코이단을 얻었다.

후코이단의 저분자화는 접촉 글로우 방전 전기분해 방법(Contact Glow Discharge Electrolysis, CGDE)으로 하였다. 전해조는 폴리프로필렌 500 mL에 두 전극과 온도계를 고정시키고, 발생가스가 유출될 수 있는 관이 꽂혀 있는 실리콘 마개로 구성하였으며, 직경이 50 µm인 백금선을 양극으로 하고, 면적 10×30 mm 백금망을 음극으로 사용하였다. 구연산을 전해질로 사용해 전기분해하여 30 kDa의 저분자화 된 후코이단을 시료를 사용하였다.

2. HPLC 정량법

시료 중의 nicotine 함량은 다음과 같이 측정하였다(Kyerematen 등 1990). 컬럼은 역상 컬럼(YMC-Pack ODS-A, Pore size 12 nm, Particle size 5 µm, length 150×4.6 mm)을 이용하였고, 기기는 high performance liquid chromatography(HPLC) 시스템(Waters, Korea)과 자외선 검출기(Waters, PDA Detector)를 이용하여 측정하였다. 시료를 물에 녹인 후 dichloromethane으로 추출하여 dichloromethane 층과 물 층에 대하여 분석하였다. Nicotine 표준품과 검출시간(RT; retention time)과 검출 피크의 UV 파장을 비교하여 분석 및 함량을 구하였다. 이동상으로는 100 mM sodium perchlorate가 함유된 10 mM sodium phosphate(pH 2.6)/acetonitrile(70/30)을 사용하였으며, 유속은 1 mL/min로 하였다. 분석시의 UV 검출기의 파장은 254 nm으

로 고정하여 사용하였다.

Nicotine에서 cotinine의 전환능의 측정은 Ghosheh 등(2000)의 방법을 변경하여 실시하였다. HPLC 분석 컬럼과 UV 검출 파장은 니코틴 함량 측정과 동일하게 하였다. 시료 3 mL에 dichloromethane 2 mL와 5 M NaOH 0.6 mL를 가하고, 15분간 혼합한 다음 2,000×g에서 5분간 원심분리 하였다. 질소가스를 이용하여 dichloromethane 층을 날려 보낸 다음, 이동상 용액 0.5 mL를 가하여 다시 녹인 용액으로 분석하였다. 이동상으로는 triethylamine이 함유된 0.1 M sodium phosphate/methanol (v/v, 90/10, pH 4.7)을 사용하였으며, 유속은 1 mL/min로 하였다. Nicotine과 cotinine의 검출시간은 각각 22분 및 7분이었다.

3. 직접혼합에 의한 nicotine 분해능

후코이단의 nicotine에서 cotinine으로의 분해 정도는 nicotine과 시료(1 mg/mL)를 직접 혼합한 후 cotinine의 생성량을 측정하였다. 1.5 mL 튜브에 10 mM의 nicotine 200 µL와 시료를 같은 양으로 혼합한 후 37°C에서 0 min, 30 min, 60 min 및 120 min 때에 시료를 회수하여 생성된 cotinine의 양을 HPLC로 측정하였다. 후코이단 및 녹차 추출물의 처리 농도는 모두 1 µg/mL로 하였다.

4. 세포 배양에 의한 nicotine 분해능 측정

세포 배양을 이용한 nicotine 분해능 측정에 사용된 세포주는 한국세포주은행에서 분양받은 간세포에서 유래한 Hep-G2 세포주를 사용하였으며, 일주일간 배양한 간세포를 1 mM nicotine이 함유되고 5% FBS가 첨가된 DMEM(Dulbecco's modified eagle medium) 배지에서 1일간 배양하였다. 배양된 세포에 시료를 0.1 mg/mL, 0.5 mg/mL 및 1 mg/mL의 농도로 첨가하여 시간대 별(1 hr, 2 hr 및 3 hr)로 배양하였다. 시료 노출 후, 배양액과 세포를 회수하여 cotinine을 HPLC로 정량하였다. 세포는 4°C에 보관된 PBS로 3~4차례 씻어낸 다음, 스크래퍼를 이용하여 세포를 수거하였다. 수거한 세포는 PBS 100 µL에 현탁하여 초음파 분쇄기(Vibra Cell-200; Newton, Conn., USA)에서 파쇄하였다. 파쇄한 세포 및 배양액은 cotinine HPLC 정량법에 근거하여 시료를 처리하여 cotinine을 정량하였다. 양성대조군으로 녹차 추출물(100 g을 증류수 80°C에서 12 시간 추출 후, 동결건조)을 이용하여 비교 측정하였다. 후코이단 및 녹차 추출물의 처리 농도는 모두 1 µg/mL로 하였다.

5. 총 페놀 화합물 측정

총 페놀 화합물 함량은 Folin-Denis 방법(Dewanto 등 2002)을 이용하였다. 시료를 1 µg/mL 농도로 조제한 후, 시료 1 mL에 증류수 3 mL를 첨가하고, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 첨가한 후 27°C에서 혼합하였다. 5분 후 NaCO₃ 포화용

액 1 mL를 넣어 혼합하여 실온에서 1 시간 방치한 후 640 nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀 화합물 함량은 표준물질 ferulic acid의 농도를 이용하여 검량선을 작성하여 정량하였다.

6. 총 플라보노이드 측정

시료 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL 및 ethanol 4.3 mL를 차례로 가하여 혼합하고, 실온에서 40분간 방치한 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin(Sigma Co., USA)을 표준물질로 하여 총 플라보노이드 함량을 계산하였다(Moreno 등 2000).

7. DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 분석은 Padda & Picha(2008)의 방법을 변형하여 사용하였다. 시료의 농도를 1,000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25 및 15.63 µg/mL 농도로 희석하여 96 well plate에 100 µL씩 하여 0.01 mM DPPH 용액을 동량 가하여 25°C에서 30분간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료대신 에탄올을 첨가하여 흡광도를 측정하였다. 시료의 DPPH 라디칼 소거 활성은 아래의 식을 이용하여 계산하였으며, 각 실험은 3회 반복 실험하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거 활성 (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

(A: 시료첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도)

8. 통계 분석

실험 결과의 통계분석은 SPSS 프로그램(version 20.0.0, Chicago, Illinois, USA)을 이용하여 평균 및 표준편차를 구하였다. 그룹간의 유의적인 통계차를 분석하기 위하여 $p < 0.05$ 의 유의수준으로 일원분산분석(one-way ANOVA)을 실시한 후, Duncan의 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)을 이용하여 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 직접혼합에 의한 nicotine 분해능

후코이단의 nicotine 제거 효능을 인체에 무해한 cotinine의 생성도를 통하여 직접혼합법을 이용하여 측정하였다. 후코이단의 nicotine 분해능을 cotinine으로의 전환량을 시간별로 측정하였다. 아무것도 처리하지 않은 대조군의 경우는 시험 종료 시점인 120분 후에도 nicotine의 cotinine으로의 전환되는 양은 11 ng/mL를 나타내었으며, 그 양은 시험 30분 및 60분 후 측정값은 각각 5 ng/mL와 7 ng/mL로 시간이 경과하면서 nicotine의 cotinine으로의 전환량은 의미 있는 증가를 나타내지 않았다. 시험군의 후코이단의 경우는 시험 30분, 60분

Fig. 1. Conversion effect of nicotine to cotinine by mixture with nicotine and fucoidan. Values (mean±S.D., n=5) with different letters (a, b, c) in a column are significantly different at $p < 0.05$.

및 120분 후에 cotinine의 양은 각각 12 ng/mL, 51 ng/mL 및 170 ng/mL로 측정되었다. Nicotine의 cotinine으로의 전환량은 초기 30분에서 60분 경과 시점에서 약 4배가 증가하였고, 120분 경과 시점에서는 14배가 증가하여 통계적으로 유의차 있는 증가 수치를 나타내었다($p < 0.05$). 양성 대조군으로 사용한 녹차 추출물의 경우는 30분, 60분 및 120분 후에 cotinine의 양은 각각 14 ng/mL, 34 ng/mL 및 124 ng/mL로 측정되었다. 녹차 추출물 처리에 의한 nicotine의 cotinine으로의 전환 정도는 초기 30분에서 60분 경과 시점에서 약 2배가 증가하였고($p < 0.05$), 120분 경과 시점에서는 8배가 증가하여 의미 있는 증가 수치를 나타내었으나, 후코이단 대비는 증가 정도가 낮았다. 이러한 결과는 nicotine의 cotinine으로의 전환에 후코이단이 효과를 주고 있다는 실험적 근거를 제공하고 있다. 후코이단이 전혀 존재하지 않는 대조군에서는 nicotine의 분해물로의 전이가 매우 느린 것을 알 수 있었다. 시험 30분 시점에서 대조군은 5 ng/mL이었고, 후코이단 처리군은 12 ng/mL로 대조군 대비 2배 정도 높은 cotinine의 양이 측정되었으며, 시간이 경과하면서 60분 후에는 7배, 120분 후에는 15배의 증가를 보여 후코이단의 nicotine 분해 효과가 나타났다($p < 0.05$). 양성 대조군으로 사용한 녹차 추출물에 비하여 60분 및 120분 시점에서는 후코이단은 각각 1.5배 및 1.3배의 cotinine 양이 측정되어 녹차 추출물 대비 효과가 우수한 것으로 평가되었다(Fig. 1).

2. 세포 배양에 의한 nicotine 분해능 측정

Hep-G2 세포주를 이용한 세포 배양 실험에서도 직접혼합법의 결과와 유사한 cotinine 생성 패턴이 관찰되었다(Fig. 2). 세포 배양에 있어 각 시간대가 경과함에 따라서 첨가되어 세포 내에 축적된 nicotine이 cotinine으로 전환되는 양이 증가하

Fig. 2. Conversion effect of nicotine to cotinine by fucoidan on HepG-2 cell line. Values (mean±S.D., n=5) with different letters (a, b, c) in a column are significantly different at $p<0.05$.

였다. 본 시험에서는 3시간까지의 cotinine 전환량을 측정하였으며, 그 이후 시간대에서는 전환되는 양이 증가하지 않았다(Data not shown). 무 처리 대조군의 경우는 1시간, 2시간 및 시험 종료 시점인 3시간까지 각각 8 ng/mL, 10 ng/mL 및 17 ng/mL로 측정되어, 시간이 경과하면서 nicotine의 cotinine으로의 전환량은 의미 있는 증가는 나타나지 않았다. 시험군의 후코이단의 경우는 시험 1시간, 2시간 및 3시간 후에 cotinine의 양은 각각 23 ng/mL, 54 ng/mL 및 98 ng/mL로 측정되었다. Nicotine의 cotinine으로의 전환량은 초기 1시간에서 2시간 경과 시점에서 약 2배가 증가하였고, 3시간 경과 시점에서는 4배가 증가하여 의미 있는 증가 수치를 나타내었다($p<0.05$). 양성 대조군으로 사용한 녹차 추출물의 경우는 1시간, 2시간 및 3시간 후에 cotinine의 양은 각각 20 ng/mL, 44 ng/mL 및 58 ng/mL로 측정되었다. 녹차 추출물 처리에 의한 nicotine의 cotinine으로의 전환 정도는 초기 1시간에서 2시간 경과 시점에서 약 2배가 증가하였고, 3시간 경과 시점에서는 3배가 증가하여 의미 있는 증가 수치를 나타내었으나($p<0.05$), 후코이단 대비 cotinine의 전환량의 증가 정도가 낮았다(Fig. 2). 한편, 후코이단 및 녹차 추출물의 처리 시에 시료 자체 내에 포함되어 nicotine의 cotinine 전환으로 인한 실험의 오류를 점검하기 위하여 시료에서의 nicotine의 함량을 측정할 결과,

Table 1. Nicotine content in fucoidan and extract of *Camellia sinensis* (green tea extract)

Sample	Nicotine (mg/g)
Fucoidan	0.0±0.0
Green tea extract	0.0±0.0

Values (mean±S.D., n=3)

후코이단 및 녹차 추출물에는 전혀 nicotine이 검출되지 않았다(Table 1).

3. 총 페놀 화합물 및 플라보노이드 함량

천연물 추출물에 대한 nicotine 분해 효과에 대한 연구결과를 보면, 이들 대부분의 천연물은 일반적으로 페놀 화합물과 플라보노이드 함량이 풍부하다. 따라서 후코이단 및 녹차 추출물의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량의 증가가 nicotine의 분해 효과와 어떤 상관성이 있는지를 알아보기 위하여 각각의 함량을 측정하였다. 후코이단의 총 페놀 화합물과 플라보노이드의 함량은 각각 4.5 ± 0.07 mg/g과 2.5 ± 0.04 mg/g이었고, 녹차 추출물의 함량은 각각 74.5 ± 2.9 mg/g과 20.8 ± 3.4 mg/g이었다(Table 2). 녹차 추출물의 총 페놀 화합물의 함량은 후코이단보다 16배 정도 높았고, 총 플라보노이드 함량도 후코이단보다 8배 정도 높게 측정이 되었다. Nicotine의 분해능을 위하여 직접혼합법과 세포주를 이용한 분해능의 측정에서 후코이단이 녹차 추출물 대비 분해능이 뛰어났으며, 그 효력을 나타내는 성분을 정확히는 알 수 없었다. 다만 천연물에서 항산화 효과가 뛰어난 것으로 알려진 페놀 화합물 및 플라보노이드 함량을 측정할 결과, 녹차 추출물이 높았으며, 이러한 높은 함량이 nicotine 분해능과는 관련이 없는 것으로 보였다.

4. DPPH 라디칼 소거 활성

후코이단과 녹차 추출물의 항산화능을 DPPH 라디칼 소거능으로 측정하였다. 후코이단과 녹차 추출물의 항산화 효능은 Table 3과 같았다. 후코이단과 녹차 추출물의 항산화 효능은 각각 36% 및 70%이었다. Table 2의 결과와 같이 녹차 추

Table 2. Total polyphenolic and flavonoid content in fucoidan and extract of *Camellia sinensis* (green tea extract)

Sample	Total polyphenolic (mg/g) ¹⁾	Total flavonoid (mg/g) ²⁾
Fucoidan	4.5±0.07	2.5±0.04
Green tea extract	74.5±2.9	20.8±3.4

¹⁾ All expressed as mg of ferulic acid equivalent

²⁾ All expressed as mg of quercetin equivalent

Values (mean±S.D., n=5)

Table 3. DPPH free radical scavenging activity of fucoidan and extract of *Camellia sinensis* (green tea extract)

Sample	DPPH inhibition (%)
Fucoidan	36±5
Green tea extract	70±3

Values (mean±S.D., n=5)

출물은 후코이단보다 총 페놀 화합물과 총 플라보노이드 함량이 높았고, 항산화 효능은 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량과 비례하는 것으로 나타났다.

Nicotine은 교감신경의 활성화, 지질 대사의 변화, 혈소판 응집 및 과응고 등으로 심혈관계 질환의 발병에 관여한다. 또 nicotine은 elastase의 분비를 촉진시켜 폐포(alveolar) 구조를 파괴하여 폐기종의 발달에 기여하는 것으로 알려져 있다(Benowitz 1988; 1996). Nicotine은 구조적으로 단순하여 체내에서 여러 대사효소들에 의해 산화과정을 거쳐 많은 대사산물이 생성되는데, 폐에서도 일부 대사가 이루어지지만, 대부분은 간에서 대사가 일어난다. 또한 nicotine의 대부분은 cotinine으로 대사되어 배출된다(Clarke 등 1995). Cotinine은 nicotine cholinergic receptors에는 거의 활성이 없는 것으로 알려져 있다(Abood 등 1983). 또한 cotinine은 흥분제와 유사한 효과를 내어 금단 현상을 줄여주는 역할을 하기도 한다(Keenan 1994). Nicotine의 cotinine으로의 대사는 산화적 스트레스의 산물 중의 하나이다. 따라서 nicotine의 대사를 위해서 체내에서는 산화적 스트레스에 의한 라디칼의 형성이 증가된다고 할 수 있다(Velosa 등 2007). 따라서 흡연으로 인한 체내 산화적 스트레스 산물인 라디칼의 소거에 항산화제가 라디칼의 소거에 도움을 줄 수 있다고 판단되며, 실제로 많은 금연 보조제 성분에는 항산화 효능이 있는 플라보노이드나 폴리페놀 성분이 다량 함유되어 있다. 특히 녹차는 폴리페놀 및 플라보노이드 성분들이 여러 식물들에 비하여 상당히 높은 것으로 알려져 있다. 그중 카테킨의 경우, 흡연자들의 nicotine으로 인한 간 및 폐에 대한 피해를 감소시켜 주는 것으로 보고되고 있다(Chung FL 1999; Desjardins & Grenier 2012).

본 시험결과에서 후코이단은 기존에 nicotine의 cotinine으로의 전환 효과가 알려져 있는 녹차 추출물보다 그 전환능이 우수한 것으로 나타났으나, 그 기전에 관해서는 알 수 없었다. 녹차 추출물의 경우도 nicotine을 cotinine으로 전환한다는 보고가 있으나, 녹차의 어떤 성분들에 의한 것인지는 아직까지 알려진 바가 없고, 다만 폴리페놀과 플라보노이드 성분들이나 기타 성분들에 의한 전환 가능성만을 언급하고 있다(Yeo 등 1995). 하지만 본 시험결과에서는 후코이단의 경우, 녹차 추출물에 비하여 폴리페놀 및 플라보노이드 성분 함량이 적었고, 또한 그로 인한 항산화능 역시 떨어졌다. 따라서 항산화 성분에 의하여 nicotine이 cotinine으로 전환된다고는 할 수 없었다. 본 시험 결과의 의의는 후코이단의 nicotine의 cotinine으로의 전환능에 대한 입증을 하였으며, 이는 금연 보조제로서의 기존의 천연식물 추출물과 함께 기능성 식품으로 후코이단 역시 사용 가능하다는 기능성의 발견에 있다고 할 수 있겠다. 하지만 그 기전 및 성분에 관하여서는 향후 추가적 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 nicotine 분해에 효과에 대하여 해양식물 유래의 후코이단을 이용하여 시험관에서 직접 혼합법 및 세포주 시험에서 nicotine의 cotinine으로의 전환능을 측정하였다. 직접 혼합법 시험결과, 후코이단 1 µg/mL에서 시간이 경과함에 따라서 nicotine의 cotinine으로의 전환 정도가 대조군 대비 증가하여 시험 종료 시점에서 15배의 증가율을 나타내었다. 세포주를 이용한 nicotine의 분해능 시험 결과, 시험 종료 시점에서 대조군 대비 6배의 cotinine 증가율을 나타내었다. 양성 대조군으로 사용한 녹차 추출물 대비 nicotine 분해능은 우수한 것으로 평가되었다. 그러나 후코이단의 항산화능은 녹차 추출물과 대비하여 낮았으며, 항산화 주요 기능을 갖는 폴리페놀 및 플라보노이드 성분 역시 낮았다. 본 시험 결과가 나타내는 바는 후코이단의 nicotine의 cotinine으로의 전환능에 대한 입증을 하였으며 이는 금연 보조 역할을 할 수 있는 기능성 소재로 사료된다.

References

- Abood LG, Grassi S, Costanza M. 1983. Binding of optically pure(-)-[3H] nicotine to rat brain membranes. *FEBS Letters* 157:147-149
- Bae JS, Lee JS, Kim YS, Sim WJ, Lee H, Chun JY, Park KP. 2008. Depolymerization of fucoidan by contact glow discharge electrolysis (CGDE). *Korean Chem Eng Res* 46:886-891
- Benowitz NL. 1988. Drug therapy. Pharmacologic aspects of cigarette smoking and nicotine addiction. *New Eng J Med* 319:1318-1330
- Benowitz NL. 1996. Pharmacology of nicotine, addiction and therapeutics. *Ann Pharmacol Toxicol* 36:597-613
- Berteau O, Mulloy B. 2003. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 13:29R-40R
- Brown BG, Ching GC, Ayres PH, Lee CK, Doolittle DJ. 1999. The effect of cotinine or cigarette smoke coadministration on the formation of O6-methylguanine adducts in the lung and liver of A/J mice treated 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK). *Toxicol Scien* 47:33-39
- Brunnemann KD, Hoffmann D. 1991. Analytical studies on tobacco-specific N-nitrosamines in tobacco and tobacco smoke. *Crit Rev Toxicol* 21:235-240

- Byrd GD, Chang KM, Greene JM, deBethizy JD. 1992. Evidence for urinary excretion of glucuronide conjugates of nicotine, cotinine, and trans-3'-hydroxycotinine in smokers. *Drug Metab Dispos* 20:192-197
- Caldwell WS, Greene JM, Byrd GD, Chang KM, Uhrig MS, deBethizy JD, Crooks PA, Bhatti BS, Riggs RM. 1992. Characterization of the glucuronide conjugate of cotinine: a previously unidentified major metabolite of nicotine in smokers' urine. *Chem Res Toxicol* 5:280-285
- Chung FL. 1999. The prevention of lung cancer induced by a tobacco-specific carcinogen in rodents by green and black tea. *Proc Soc Exp Biol Med* 220:244-248
- Clarke PBS, Quik M, Adlkofer F, Thureau K. 1995. Effects of nicotine on biological systems II. Advances in pharmacological sciences. pp. 9-16. Birkhauser Verlag Basel
- Desjardins J, Grenier D. 2012. Neutralizing effect of green tea epigallocatechin-3-gallate on nicotine-induced toxicity and chemokine (C-C motif) ligand 5 secretion in human oral epithelial cells and fibroblasts. *J Investig Clin Dent* 3:189-197
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidative activity. *J Agric Food Chem* 50:3010-3015
- Fortun A, Khalil A, Gagne D, Douziech N, Kuntz C, Dupuis G. 2001. Monocytes influence the fate of T cells challenged with oxidised low density lipoproteins towards apoptosis or MHC-restricted proliferation. *Atherosclerosis* 156:11-21
- Ghosheh OA, Browne D, Rogers T, de Leon J, Dwoskin LP, Crooks PA. 2000. A simple high performance liquid chromatographic method for the quantification of total cotinine, total 3'-hydroxycotinine and caffeine in the plasma of smokers. *J Pharm Biomed Anal* 23:543-549
- Heinze TH, Helbig K, Klemm D. 1993. Investigation of metal ion adsorption of carboxymethyl cellulose gel beads. *ACTA Polymerica* 44:108-109
- Huang R, Li M, Gregory RL. 2012. Effect of nicotine on growth and metabolism of *Streptococcus mutans*. *Eur J Oral Sci* 120:319-325
- Jang LK, Nguyen D, Geesey GG. 1995. Selectivity of alginate gel for Cu vs Co. *Water Res* 29:307-313
- Keenan RM, Hatsukami DK, Pentel PR, Thompson TN, Grillo MA. 1994. Pharmacodynamic effects of cotinine in abstinent cigarette smokers. *Clin Pharmacol Ther* 55:581-590
- Kim JH, Lee DH, Cho HJ, Jeong JM. 2002. Effects of phyto-extract mixture on the nicotine decomposition. *J Fd Hyg Safety* 17:8-14
- Kyerematen GA, Morgan ML, Chattopadhyay B, deBethizy JD, Vessli ES. 1990. Disposition of nicotine and eight metabolites in smokers and nonsmokers: identification in smokers of two metabolites that are longer lived than cotinine. *Clin Pharmacol Ther* 48:641-651
- Kyung YJ, Lee DH. 2000. Enhanced conversion to cotinine from nicotine by green tea extract. *Kor J Environ Agr* 19:147-153
- Mauray S, Raucourt E, Talbot J, Jozefowicz M, Fischer A. 1998. Mechanism of factor IXa inhibition by antithrombin in the presence of unfractionated and low molecular weight heparins and fucoidan. *Biochim Biophys Acta Protein Struct Mol Enzymol* 1387:184-194
- Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J Ethnopharmacology* 71:109-114
- Padda MS, Picha DH. 2008. Effect of low temperature storage on phenolic composition and antioxidant activity of sweet potatoes. *Postharvest Biol Tech* 47:176-180
- Park JS, Kim JS, Park JH, Park SJ, Cho HS, Hong EK. 2003. Effect of herbal extract on nicotine degradation. *Kor J Biotechnol Bioeng* 18: 239-242
- Saito A, Yoneda M, Yokohama S, Okada M, Haneda M, Nakamura K. 2006. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. *Hepato Res* 35:190-198
- Saitoh F, Noma M, Kawashima N. 1985. The alkaloid contents of sixty *Nicotiana* species. *Phytochemistry* 24:477-480
- Schroeder SA. 2005. What to do with a patient who smokes. *JAMA* 294:482-487
- Sridharan S, Ganiger K, Satyanarayana A, Rahul A, Shetty S. 2011. Effect of environmental tobacco smoke from smoker parents on gingival pigmentation in children and young adults: a cross-sectional study. *J Periodontol* 82:956-962
- Steinberg MB, Alvarez MS, Delnevo C, Kaufman I, Cantor JC. 2006. Disparity of physicians' utilization of tobacco treatment services. *Am J Health Behav* 30:375-386
- Tatiana NZ, Nataliya MS, Irina BP, Vladimir VI, Andrey SS, Elena VS, Lyudmila AE. 1999. A new procedure for the separation of water-soluble polysaccharides from brown seaweeds. *Carbohydr Res* 322:32-39
- Thäle V, Schlitt A. 2011. Effects of alcohol and smoking in pregnancy. *Internist* 52:1185-1190

- Velloso JCR, Khalil NM, Fonseca LM, Brunetti IL, Oliveira OMMF. 2007. Does cotinine act upon reactive oxygen species and peroxidases? *Ecl Quím São Paulo* 32:65-70
- Yang JW, Yoon SY, Oh SJ, Kim SK, Kang KW. 2006. Bi-functional effects of fucoidan on the expression of inducible nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun* 346: 345-350
- Yeo SG, Ahn CW, Lee YW, Lee TG, Park YH, Kim SB. 1995. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Kor Soc Food Nutr* 24:299-304
-
- 접 수 : 2014년 4월 15일
최종수정 : 2014년 8월 12일
채 택 : 2014년 8월 20일