

한국 전통차의 Peroxynitrite 및 총 활성산소종 소거 작용

부산대학교 식품영양학과, ¹부산대학교 신약개발연구소 약학과
²마산대학, ³부산대학교 분자생물학과

계인숙 · 전영수 · 이숙희 · 노재경¹ · 심경희¹ · 김유정¹
백봉숙¹ · 김 종² · 정해영¹ · 김한도³ · 유병필³

Scavenging Activity of Peroxynitrite and Total Free Radicals of Korean Traditional Teas

In-Sook Kye, Young-Soo Jeon, Suk-Hee Lee, Jae-Kyung No¹, Kyung-Hee Shim¹
You-Jung Kim¹, Bong-Sook Baek¹, Jong Kim², Hae-Young Chung¹
Han-Do Kim³, and Byung-Pal Yu³

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

*¹Department of Pharmacy, Research Institute of Drug Development,
Pusan National University, Pusan 609-735, Korea*

²Masan College, Sewon-Ku, Masan, 630-480, Korea

³Department of Molecular Biology, Pusan National University, Pusan 690-735, Korea

The "Oxygen Paradox" is that higher eukaryotic aerobic organisms cannot exist without oxygen, yet oxygen is inherently dangerous to their existence. Moreover, reactive oxygen species (O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$) and peroxynitrite ($ONOO^-$) are proposed as agents attacking fatty acids in cells, tissues, or organism, giving rise to an oxidative damage of biologically important molecules. Especially, $ONOO^-$ formed from superoxide (O_2^-) and nitric oxide (NO) acts as a strong cytotoxicant giving carcinogenesis, cell death and low density lipoprotein oxidation. In the present study, 21 kinds of teas including cereal teas (job's tears tea, roasted barley tea, roasted indian corn tea, scorched rice tea), fruit teas (boxthorn tea, chinese quince tea, citron tea, dried persimmon tea, jujube tea, kyŏlmyŏngja tea, sansuyoo tea), leaf teas (black tea, duch'ung tea, green tea, oolong tea, persimmon leaf tea) and root teas (arrowroot tea, chicory tea, ginger tea, ginseng tea, solomon's seal tea) were screened for the scavenging activities against peroxynitrite formation by SIN-1 and peroxynitrite itself. Green tea showed the strongest peroxynitrite scavenging activity. Moreover, 21 kinds of teas including cereal teas, fruit teas, leaf teas and root teas were screened for the scavenging effects against total free radical formation by using DCFDA assay. Among the several teas, green tea showed the strongest scavenging activity respectively. These results suggest that green tea might show cytoprotective action through antioxidant and peroxynitrite scavenging activity.

Key Words: Korean traditional teas, Peroxynitrite, Total free radicals

서 론

활성산소(O_2^- , H_2O_2 , $\cdot OH$)는 외부로부터의 여러가지 요인 및 과도한 스트레스에 의한 체내의 생화학적 반응에 의해 생성되며 지질의 과산화, 효소의 실활, DNA, RNA, 효소 및 세포막에 손상을 일으켜 세포사 및 여러가지 질환을 유발할 뿐만 아니라, 식품의 품질을 저하시킨다고 알려져 있다.¹⁾ 또한 nitric oxide (NO)는 반응성이 크고 반감기가 아주 짧은 특징을 갖는 활성산소로 대식세포, 호중구 등에서 생성되며 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 L-arginine을 기질로 하여 합성되며 거의 대부분의 포유동물에서 세포내 messenger로 작용하며, 혈관의 항상성 유지, 신경전달, 면역계 등에 관여한다.^{2,3)} 또한 NO는 세포막을 쉽게 확산하여 다른 활성산소들과 반응할 수 있으며, 특히 O_2^- 와 쉽게 반응하여 반응성이 매우 높은 산화제인 peroxynitrite ($ONOO^-$)를 생성한다.^{4,5)} 최근에 많은 연구가 수행되고 있는 $ONOO^-$ 는 NO와 유사한 생리작용을 가지며, 단백질과 펩타이드의 methionine 잔기, thiols, thioether의 산화 및 지질 과산화를 유도하여 세포 독성을 야기하며 많은 만성질환과 관련되는 것으로 보고되고 있다.⁶⁻⁹⁾

그러나 모든 생물은 산소를 이용하여 생명 활동을 영위하고 있으며, 산소 호흡시 수반되어 생성되는 활성산소는 여러가지 유해한 작용을 나타내므로 생체는 이를 효율적으로 조절할 수 있는 체제를 구비할 필요가 있으므로 식품소재로서 이들 활성산소에 의한 산화적 손상을 억제시키는 성분들에 대한 많은 연구들이 행해지고 있다.^{10,11)}

한편 최근 과학 및 의학의 발달과 생활환경의 개선으로 평균수명이 연장됨에 따라 건강한 삶을 영위하기 위하여 영양관리를 어떻게 할 것인가 하는 문제는 우리에게 커다란 관심사가 아닐 수 없다. 이는 질병의 치료보다는 예방이 훨씬 더 용이하고 경제적이므로 바람직한 관리를 통하여 건강한 생활을 유지하고 질병을 예방할 수 있다면 그보다 더 효율적인 해결책이 없을 뿐만 아니라 좋은 식품을 통한 영양 섭취는 장기적으로 강제성없이 자발적으로 행해질 수 있다는 면에서 약품에 의한 치료와는 또 다른 접근 방법이라 사료된다.

특히 차는 커피, 코코아와 함께 카페인을 함유한 비

알콜성 기호음료로서 많은 사람들이 예로부터 음용하여 왔으며, 이러한 차의 약리학적 효능은 本草綱目,¹²⁾ 東醫寶鑑¹³⁾ 등의 古書에도 기록되어 있다. 근래 차를 음용하고 있는 인구가 증가함에 따라 차의 성분과 효능에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으나, 차에 관한 이전의 다양한 연구들은 주로 몇 종류의 제한된 차에 대한 연구가 대부분이었으므로, 본 연구에서는 우리나라에서 시판, 음용되는 차 중에서 곡류를 이용한 울무차, 보리차, 옥수수차, 송농차 등의 곡차류(穀茶類), 열매를 이용한 구기자차, 모과차, 유자차, 꽃감차, 대추차, 결명자차, 산수유차 등의 과차류(果茶類), 잎을 이용한 홍차, 두충차, 녹차, 우롱차, 감잎차 등의 엽차류(葉茶類) 및 뿌리를 이용한 침차, 치커리차, 생강차, 인삼차, 둥굴레차 등의 근차류(根茶類)를 포함한 21종의 한국 전통차에 대해 강력한 산화제인 $ONOO^-$ 및 활성산소의 소거활성을 검토하였다.

재료 및 방법

1) 실험재료

우리나라에서 시판되어 음용하고 있는 여러가지 전통차 중에서 곡류를 이용한 울무차, 보리차, 옥수수차, 송농차 등의 곡차류(穀茶類), 열매를 이용한 구기자차, 모과차, 유자차, 꽃감차, 대추차, 결명자차, 산수유차 등의 과차류(果茶類), 잎을 이용한 홍차, 두충차, 녹차, 우롱차, 감잎차 등의 엽차류(葉茶類) 및 뿌리를 이용한 침차, 치커리차, 생강차, 인삼차, 둥굴레차 등의 근차류(根茶類)를 포함하는 21종의 차를 부산의 부전시장에서 구입하여, 건조시료 중량의 20배의 메탄올을 첨가하고 24시간 교반을 2회 반복하여 메탄올 추출물을 얻은 다음, 이것을 회전식 진공농축기로 농축한 후 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

2) 조직의 분획 조제

간과 신장조직을 0.5 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 1 mM EDTA, 80 mg/l trypsin inhibitor가 포함된 50 mM phosphate buffer (pH 7.4)를 가해 균질화한 후 900×g, 4°C에서 15분간 원심분리하고 그 상등액을 다시 12,000×g, 4°C에서 15분간 원심분리하여 얻어진 침전에 buffer를 가해 현탁하여 미토콘드리아 분획으로 하고 상등액은 postmitochondria 분획으로 하였다.

3) 활성산소 측정방법

2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) assay¹⁴⁾: 99.9%의 에탄올에 용해한 12.5 mM DCFDA와 3차 증류수에 용해한 600 U/ml esterase를 -20°C에 stock solution으로 저장하였으며, 실험시 10 µM DCFDA와 6 U/ml esterase를 혼합하여 조제된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH)용액을 22°C에서 20분간 배양한 후 사용 전까지 암소에서 냉동보관하였다.

DCFDA assay는 활성산소의 세포성 생성과 post-mitochondria에서의 생성에 대한 probe로서 사용된다. 이는 지용성의 DCFDA가 esterase 또는 산화적 가수분해를 받아 비형광성인 DCFH로 탈아세틸화되며, DCFH는 활성산소에 의해 산화되어 강한 형광을 나타내는 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCF)이 되므로, excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 Fluorescence Microplate reader (FL 500, Bio-Tex instruments)로 측정하였다.

4) Peroxynitrite (ONOO⁻) 측정방법

Crow¹⁵⁾의 방법에 의하여 모든 산화 반응은 37°C에서 1.5 ml glass cuvette에 100 µM diethylenetriaminepentaacetic acid (DTPA)를 함유한 100 mM phosphate buffer (pH 7.4) 반응 혼합물의 전체용량을 1 ml로 하여 1분간 배양한 후 반응 혼합물에 각각의 시료 및 100 µM 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA)와 200 µM 3-morpholinomorpholinone (SIN-1) 또는 5 µM peroxynitrite를 첨가한 후 그 반응 혼합물을 UV/visible spectrophotometer (Pharmacia Biotech., Cambridge, England)를 이용하여 500 nm에서 측정하였다.

5) 총 활성산소 생성량의 측정

간 및 신장 조직의 postmitochondria 분획의 총 활성산소 생성능을 DCFDA assay를 이용하여 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer와 간과 신장조직의 postmitochondria 분획 및 시료를 넣어 37°C에서 5분간 shaking한 후 DCFDA를 첨가하여 생성된 형광의 변화를 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 60분간 Fluorescence Microplate reader (FL 500, Bio-Tex

instruments)로 측정하였다.

6) 통계분석

대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험 결과들은 Mean±SD치로 표시하였고, 각 실험 결과로부터 ANOVA (analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple test를 이용하여 각 군의 평균간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1) 한국 전통차의 peroxynitrite (ONOO⁻) 제거작용

(1) 3-Morpholinomorpholinone (SIN-1)에 의해 형성된 ONOO⁻에 대한 각 차의 효과: SIN-1은 NO와 O₂를 발생시켜 결과적으로 강력한 독작용을 가진 ONOO⁻를 생성하는 물질이며, 반응에 의해 형성된 ONOO⁻는 활성산소가 아니며 O₂와 NO에 의해 새로운 결합을 형성하여 알칼리 pH에서 매우 안정한 특성을 갖는 강력한 산화제이다.

ONOO⁻를 측정하는 방법은 ONOO⁻에 의해 형성된 단백질 tyrosine 잔기의 니트로화를 측정하는 방법으로 UV-visible spectroscopy, GC-MS Mass spectroscopy, amino acid analysis, HPLC analysis 및 nitrotyrosine에 특이적인 polyclonal 또는 monoclonal antibody를 이용한 방법 등이 있으며, 이 외에도 형광강도법, 화학발광법, 분광강도법 등이 이용된다.¹⁶⁾

SIN-1에 의한 ONOO⁻ 형성에 대한 각 차성분의 제거작용을 형광강도법을 이용하여 살펴보았는데 각 시료의 메탄올 추출물을 20 µg/ml로 전처리한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 대조군(SIN-1) 100.7%에 대해 옥수수차 106.7%, 구기자차 97.2%, 인삼차 95.9%, 산수유차 82.4%, 모과차 81.2%, 꽃감차 81.1%, 치커리차 77.3%, 송농차 74.9%, 생강차 66.1%, 감잎차 64.7%, 유자차 64.4%, 두충차 58.0%, 울무차 57.4%, 칩차 55.6%, 보리차 54.3%, 동굴레차 53.5%, 대추차 38.8%, 결명자차 36.1%, 홍차 24.8%, 우롱차 14.3%, 녹차 2.0%의 순으로 녹차가 ONOO⁻ 형성을 가장 크게 저해하였다. 이들 21종의 전통차를 이용되는 재료별로 분류하였을 때 엽차류(葉茶類)는 32.8%로 곡차류(穀茶類) 71.8%, 과차류(果茶

Table 1. Effects of Korean traditional teas on peroxynitrite formation by 3-morpholinopyridone

Kinds of tea (20 µg/ml)	% of control
Control	100.7±10.3 ^{aA}
Cereals	
Job's tears tea (율무차)	57.4±5.0 ^f
Roasted Barley tea (보리차)	54.3±2.3 ^{fg}
Roasted Indian corn tea (옥수수차)	100.7±0.3 ^a
Scorched rice tea (송농차)	74.9±2.1 ^{cde}
Average of cereal teas	71.8±21.2 ^B
Fruits	
Boxthorn tea (구기자차)	97.2±4.7 ^{ab}
Chinese quince tea (모과차)	81.2±9.9 ^{bcd}
Citron tea (유자차)	64.4±7.8 ^{def}
Dried persimmon tea (곶감차)	81.1±4.5 ^{bcd}
Jujube tea (대추차)	38.8±5.1 ^{gh}
Kyōi Myōng Ja tea (결명자차)	36.1±3.2 ^h
San Su Yoo tea (산수유차)	82.4±4.0 ^{bc}
Average of fruit teas	68.7±23.4 ^B
Leaves	
Black tea (홍차)	24.8±3.1 ^{hi}
Du Ch'ung tea (두충차)	58.0±2.6 ^{ef}
Green tea (녹차)	2.0±1.5 ^j
Oolong tea (우롱차)	14.3±0.9 ^{ij}
Persimmon leaf tea (감잎차)	64.7±9.7 ^{def}
Average of leaf teas	32.8±27.4 ^C
Roots	
Arrowroot tea (참차)	55.6±3.5 ^f
Chicory tea (치커리차)	77.3±7.4 ^{bcd}
Ginger tea (생강차)	66.1±0.5 ^{cdef}
Ginseng tea (인삼차)	95.9±1.6 ^{ab}
Solomon's seal tea (동굴레차)	53.5±2.8 ^{fg}
Average of root teas	69.7±17.5 ^B

Values are mean±SD.
^{a-j}Means and ^{A-C}average of each tea groups are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

類) 68.7%, 근차류(根茶類) 69.7%에 비해 ONOO⁻ 형성이 억제되었으며, 곡차류, 과차류, 근차류 사이에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다(p<0.05). 또한 열차류 중에서 홍차, 우롱차 및 녹차는 그 저해작용이 탁월하였으며, 특히 녹차는 ONOO⁻ 형성을 현저히 저해하였는데 이는 녹차의 어떤 성분 또는 성분들의 복합적인 작용에 의해 SIN-1에 의해 생성되는 NO와 O₂⁻ 생성을 감소시켜 ONOO⁻의 형성을 저해하는 것으로 사료된다.

(2) Peroxynitrite (ONOO⁻)에 대한 각 차의 효과:

Table 2. Effects of Korean traditional teas on authentic peroxynitrite

Kinds of tea (20 µg/ml)	% of control
Control	100.7±10.3 ^{aA}
Cereals	
Job's tears tea (율무차)	84.3±4.7 ^b
Roasted Barley tea (보리차)	67.6±1.3 ^{fg}
Roasted Indian corn tea (옥수수차)	68.7±3.3 ^{fg}
Scorched rice tea (송농차)	66.6±5.3 ^{fg}
Average of cereal teas	71.8±8.4 ^B
Fruits	
Boxthorn tea (구기자차)	81.4±1.9 ^{bcd}
Chinese quince tea (모과차)	82.8±6.0 ^{bc}
Citron tea (유자차)	83.0±2.4 ^{bc}
Dried persimmon tea (곶감차)	81.6±3.8 ^{bcd}
Jujube tea (대추차)	76.2±1.9 ^{cde}
Kyōi Myōng Ja tea (결명자차)	94.3±7.9 ^a
San Su Yoo tea (산수유차)	71.6±1.1 ^{ef}
Average of fruit teas	81.6±7.0 ^B
Leaves	
Black tea (홍차)	38.2±3.1 ^h
Du Ch'ung tea (두충차)	80.7±0.5 ^{bcd}
Green tea (녹차)	6.4±0.4 ^j
Oolong tea (우롱차)	13.2±1.7 ⁱ
Persimmon leaf tea (감잎차)	75.9±4.8 ^{de}
Average of leaf teas	42.9±34.5 ^C
Roots	
Arrowroot tea (참차)	62.2±1.1 ^g
Chicory tea (치커리차)	67.9±1.6 ^{fg}
Ginger tea (생강차)	73.1±1.1 ^{ef}
Ginseng tea (인삼차)	81.5±2.1 ^{bcd}
Solomon's seal tea (동굴레차)	75.9±2.5 ^{de}
Average of root teas	72.1±7.4 ^B

Values are mean±SD.
^{a-j}Means and ^{A-C}average of each tea groups are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

ONOO⁻ 자체에 대한 직접적인 제거효과를 확인하기 위해 각 시료의 메탄을 추출물을 20 µg/ml로 전처리한 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 대조군 100%에 대해 결명자차 94.3%, 율무차 84.3%, 유자차 83.0%, 모과차 82.8%, 곶감차 81.6%, 인삼차 81.5%, 구기자차 81.4%, 두충차 80.7%, 대추차 76.2%, 감잎차 75.9%, 동굴레차 75.9%, 생강차 73.1%, 산수유차 71.6%, 치커리차 67.9%, 보리차 67.6%, 송농차 66.6%, 참차 62.2%, 옥수수차 68.7%, 홍차 38.2%, 우롱차 13.2%, 녹차 6.4%의 순으로 녹차가 ONOO⁻를

저해하는 효과가 가장 크게 나타났다.

이들 21종의 전통차를 이용되는 재료별로 분류하였을 때 엽차류는 42.9%로 곡차류 71.8%, 과차류 81.6%, 근차류 72.1%에 비해 ONOO⁻ 형성이 저해되었으며, 곡차류, 과차류, 근차류 사이에는 유의적인 차이는 나타나지 않았다(p<0.05). 또한 엽차류 중에서 홍차, 우롱차 및 녹차는 그 저해작용이 탁월하였으며, 특히 녹차는 ONOO⁻를 현저히 저해하였는데 이는 녹차가 SIN-1에 의한 ONOO⁻의 형성을 억제할 뿐만 아니라 ONOO⁻ 자체를 저해하는 데 탁월한 효과를 나타내는

성분을 함유하는 것으로 사료되며, 이러한 작용은 이미 전보¹⁷⁾에서 보고하였듯이 녹차성분 중 galloyl group을 함유하지 않은 (-)-epicatechin (EC), (+)-catechin (C)에 비해 galloyl group을 함유하며 OH group의 수가 많은 (-)-epicatechin 3-O-gallate (ECG), (-)-gallocatechin 3-O-gallate (GCG), (-)-epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG) 등에 의해 행해지며 특히 GCG, EGCG는 강력한 ONOO⁻ 소거제인 penicillamine과 비교하여 약 3배 정도 강력한 소거작용을 나타내었다.

Table 3. Effect of Korean traditional teas on total free radical formation

Kinds of tea (20 µg/ml)	% of control
Control	100.0±1.7 ^{dAB}
Cereals	
Job's tears tea (올무차)	74.5±1.6 ^{hij}
Roasted Barley tea (보리차)	152.5±6.3 ^a
Roasted Indian corn tea (옥수수차)	84.4±3.2 ^{ef}
Scorched rice tea (송농차)	137.8±4.0 ^b
Average of cereal teas	112.3±38.6 ^A
Fruits	
Boxthorn tea (구기자차)	99.6±3.4 ^d
Chinese quince tea (모과차)	75.6±3.3 ^{hij}
Citron tea (유자차)	71.9±1.7 ^j
Dried persimmon tea (곶감차)	88.9±4.1 ^e
Jujube tea (대추차)	83.6±4.2 ^{efg}
Kyōl Myūng Ja tea (결명자차)	82.7±2.9 ^{efg}
San Su Yoo tea (산수유차)	73.4±0.2 ^{ji}
Average of fruit teas	82.2±9.8 ^B
Leaves	
Black tea (홍차)	101.0±9.1 ^d
Du Ch'ung tea (두충차)	103.5±4.3 ^d
Green tea (녹차)	49.7±1.5 ^k
Oolong tea (우롱차)	75.2±2.4 ^{efg}
Persimmon leaf tea (감잎차)	81.5±4.5 ^{gh}
Average of leaf teas	82.2±21.9 ^B
Roots	
Arrowroot tea (참차)	77.0±1.7 ^{ghij}
Chicory tea (치커리차)	100.9±3.5 ^d
Ginger tea (생강차)	79.5±3.0 ^{ghi}
Ginseng tea (인삼차)	98.5±2.3 ^d
Solomon's seal tea (등굴레차)	119.8±3.9 ^c
Average of root teas	95.1±17.5 ^{AB}

Values are mean±SD.

^{a-k}Means and ^{A-B}average of each tea groups are significantly different at the 0.05 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

2) 한국 전통차 및 각 녹차성분의 활성산소 제거 효과

(1) 차 종류에 따른 총 활성산소 생성에 대한 제거 작용: 각 시료의 메탄올 추출물을 500 µg/ml로 전처리한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같이 대조군 100%에 대해 보리차 152.5%, 송농차 137.8%, 등굴레차 119.8%, 두충차 103.5%, 홍차 101.0%, 치커리차 100.9%, 구기자차 99.6%, 인삼차 98.5%, 곶감차 88.9%, 옥수수차 84.4%, 대추차 83.6%, 결명자차 82.7%, 감잎차 81.5%, 생강차 79.5%, 참차 77.0%, 모과차 75.6%, 우롱차 75.2%, 올무차 74.5%, 산수유차 73.4%, 유자차 71.9%, 녹차 49.7%의 순으로 녹차가 총 활성산소 생성을 가장 크게 저해하였다.

이들 21종의 전통차를 이용되는 재료별로 분류하였을 때 엽차류와 과차류는 82.2%로 곡차류 112.3%, 근차류 95.1%에 비해 총 활성산소 형성이 저해되었으며, 엽차류 중에서는 녹차가 49.7%로 총 활성산소 형성이 가장 크게 저해되었다(p<0.05). 또한 21종의 한국 전통차 중 녹차를 제외한 차들의 총 활성산소 제거 작용은 감잎차에 함유된 비타민 A, C, E 및 축합형 탄닌의 활성산소 소거작용,¹⁸⁾ 생강에 함유된 gingerol¹⁹⁾의 항산화작용, 참 catechin²⁰⁾의 활성산소 억제작용 및 산수유 추출물에 함유된 ursolic acid, 주석산, 사과산 외의 4개의 glucoside²¹⁾ 성분 중 특히 ursolic acid의 간 조직 및 심장조직에서 내인성 항산화물질을 통한 항산화제 작용²²⁾과 같은 이들의 종합적인 작용에 의한 것으로 사료된다. 뿐만 아니라 여등²³⁾은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical을 이용해 녹차, 홍차, 우롱차의 수용성, 메탄올 추출물 및 粗 catechin의 활성산소 소거작용을 연구한 결과 이들 엽차 추출물 모두 강한 소거작용이 있는 것으로 보고하

였으며, 이 중 비발효차인 녹차 및 반발효차인 우롱차가 가장 우수한 것으로 나타나 본 연구에서 엽차류의 강력한 소거작용과 일치한 결과를 나타내었다.

또한 곡류가공식품인 antioxidant biofactor (AOB)를 O_2^- , $\cdot OH$, DPPH radical 소거작용을 검토한 결과 *in vitro*에서는 O_2^- , $\cdot OH$, DPPH radical에 대해 농도의존적으로 저해되었으며, *in vivo*에서는 대조군에 비해 O_2^- 의 소거작용이 투여 농도와 기간에 따라 증가되었는데²⁴⁾ 이는 AOB의 재료 중 특히 녹차 및 녹엽 추출물에 존재하는 flavonoids, 비타민 C, 탄닌의 종합적인 항산화작용에 의한 것으로 생각되며, 이러한 작용들을 통해 여러가지 차 중에서 녹차가 가장 강력한 총 활성산소 소거작용을 나타낼 것으로 사료된다.

(2) 총 활성산소 생성에 대한 녹차 추출물의 제거작용: 우리나라에서 음용하고 있는 여러 가지 종류의 차에 대한 screening 결과 다른 차에 비해 녹차의 탁월한 총 활성산소 제거작용의 결과를 토대로 시중에서 판매되는 녹차를 이용한 메탄올 추출물을 농도별로 전처리한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 녹차 추출물의 농도가 50 $\mu g/ml$ 일 때는 6.1%, 100 $\mu g/ml$ 일 때는 34.2%, 400 $\mu g/ml$ 일 때는 40.2%, 800 $\mu g/ml$ 일 때는 56.6%로 농도의존적으로 총 활성산소 생성을 유의성 있게 억제시켰다.

요 약

본 연구에서는 우리나라에서 시판되어 많은 사람들이 손쉽게 음용하는 차 중에서 곡류를 이용한 울무차,

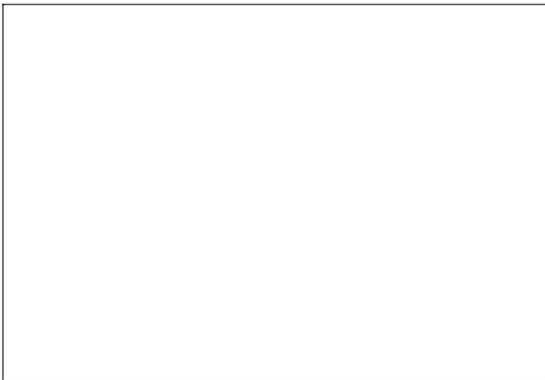


Fig. 1. Dose-response curve of crude green tea methanol extract on total free radical scavenging activity

보리차, 옥수수차, 송농차 등의 곡차류, 열매를 이용한 구기자차, 모과차, 유자차, 꽃감차, 대추차, 결명자차, 산수유차 등의 과차류, 잎을 이용한 홍차, 두충차, 녹차, 우롱차, 감잎차 등의 엽차류 및 뿌리를 이용한 칩차, 치커리차, 생강차, 인삼차, 동굴레차 등의 근차류를 포함한 21종의 한국 전통차에 대해 SIN-1에 의한 ONOO⁻ 형성, ONOO⁻ 자체의 제거작용 및 총 활성산소에 대한 제거작용을 screening한 결과 곡차류, 과차류, 엽차류, 근차류 중에서 홍차, 우롱차, 녹차 등이 포함된 엽차류가 강력한 제거작용을 나타내었으며, 특히 녹차는 농도의존적으로 매우 강력한 소거작용을 나타내었다.

따라서 여러가지 전통차 중에서 녹차의 음용은 활성산소 및 ONOO⁻에 의한 조직손상 및 질환에 유효한 기호음료가 되리라는 것을 시사해 준다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 부산대학교의 학술 연구조성비 및 한국과학총연합회의 해외고급과학두뇌 초빙활동제도에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- 1) Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 222: 1.
- 2) Ameczua JL, Palmer RMJ, De Souza BM, Moncada S. Nitric oxide synthesized from L-arginine regulates vascular tone in the coronary circulation of the rabbit. *Br J Pharmacol* 1989; 97, 1119.
- 3) Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J* 1992; 6: 3051.
- 4) Maliski T, Tah Z, Grinfeel DS, Patton S, Kapruczak M, Tombouliau P. Diffusion of nitric oxide in the wall monitored in situ. by porphyrinic microsensors. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 1076.
- 5) Radi R, Beckman JS, Bush KM, Freeman BA. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. *J Biol Chem* 1991; 266: 4244.
- 6) Althaus JS, Oien TT, Fici GJ, Scherch HM, Sethy VH, VonVoigtlander PF. Structure activity relationships of peroxynitrite scavengers an approach to nitric oxide neurotoxicity. *Res Commu Chem Patho Pharmacol* 1994; 83(3): 243.
- 7) Haenen GRMM, Paquay JBG, Korthouwer REM, Bast A. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem*

- Biophy Res Commu* 1997; 236: 591.
- 8) Pannala AS, Rice-Evans CA, Halliwell B, Singh S. Inhibition of peroxynitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols. *Biochem Biophy Res Commu* 1997; 232: 164.
 - 9) Lin KT, Xue JY, Sun FF, Wong PYK. Reactive oxygen species participate in peroxynitrite induced apoptosis in HL-60 cells. *Biochem Biophy Res Commu* 1997; 230: 115.
 - 10) Wiseman H. Dietary influences on membrane function; Importance in protection against oxidative damage and disease. *Nutri Biochem* 1996; 7: 2.
 - 11) Watzl B. Health-promoting effects of phytochemicals, non-nutritive health factors for future foods, Proceeding of IUFOST '96 regional symposium. *Kor Soc Food Sci Technol* 1996; 203.
 - 12) 李時珍. 本草綱目, 高文社, 1975; 1069.
 - 13) 許浚. 東醫寶鑑, 南山堂, 1975; 743.
 - 14) Thomas P, Herbert DG, James PK. Production of reactive oxygen by mitochondria from normoxic and hypoxic rat heart tissue. *Free Radic Biol Med* 1992; 13, 289.
 - 15) Crow JP. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro; Implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. *Nitric oxide: Biology and Chemistry* 1997; 1(2): 145.
 - 16) Ischiropoulos H, Beckman JS, Crow JP, Ye YZ, Royall JA, Kooy NW. Detection of peroxynitrite. *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 1995; 7: 109.
 - 17) Chung HY, Yokozawa T, Soung DY, Kye IS, No JK, Baek BS. Peroxynitrite-scavenging activity of green tea tannin. *J Agric Food Chem* 1998; 46(11): 4484.
 - 18) Uchida S, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Nonaka GI, Nishioka I, Niwa M, Ozaki M. Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med Sci Res* 1987; 15: 831.
 - 19) 백숙은. 생강 추출획분의 대두유 및 흰쥐 간 마이크로솜 지질 과산화 억제 효과. *한국조리과학회지* 1995; 11(4): 365.
 - 20) 한석현, 김종배, 민상기, 이치호. 사염화탄소를 투여한 흰쥐에 있어서의 간 기능에 미치는 칙 카테킨의 효과. *한국영양식량학회지* 1995; 24(5), 713.
 - 21) Yang TH, Liu SH, Sun MH. Constituents of the fruits of *Cornus officinalis*. *Taiwan Yao Hsueh Tsa Chih* 1971; 22: 1.
 - 22) 김정선. Bismuth nitrate, ursolic acid, magnesium lithospermate B의 항산화 및 세포 보호작용 기전. 부산대학교 박사학위논문 1995.
 - 23) 여생규, 안철우, 이용우, 이태기, 박영호, 김선봉. 녹차, 오롱차 및 홍차 추출물의 항산화효과. *한국영양식량학회지* 1995; 24(2), 299.
 - 24) Minamiyama Y, Yoshikawa T, Tanigawa T, Takahashi S, Naito Y, Ichikawa H. Antioxidative effects of a processed grain food. *J Nutr Sci Vitaminol* 1994; 40(5): 467.