

흰 쥐의 고정화 스트레스에 대한 루이보스티의 방어 효과

홍성길 · 서원상 · 정호권 · 강상모
건국대학교 미생물공학과

Protecting Effects by Rooibos Tea against Immobilization Stress-induced Cellular Damage in Rat

Seonggil Hong, Wonsang Seo, Hokwon Jung and Sangmo Kang
Department of Microbial Engineering, Kon-Kuk University

Abstract

Stress will induce various changes in human metabolism. The remarkable phenomenon of these changes is increased energy metabolism that can induce many reactive oxygen species (ROS) production. ROS can peroxidize cellular macromolecules including lipid and protein. The object of this study was to investigate that stress may induce cellular damage by producing ROS and that Rooibos tea can protect cells against reactive oxygen species by immobilization stress in SD rat. The stress group significantly increased in 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA), one of the stress hormone. Rooibos tea treatment had no effects on 5-HIAA contents, but body weight of Rooibos tea treated rat more increased than that of only the stress group. It was suggested that Rooibos tea could not affect stress response itself, but protect against the another mechanism. We thought that the oxidative damage was caused by increased energy metabolism. Protein degradation level and lipid peroxide formation on index of oxidative damage significantly increased in the stress group. But the stress-induced activity change could not be observed in antioxidative enzymes such as superoxide dismutase, glutathione peroxidase and glutathione reductase. But the catalase activity of the brain significantly was inhibited by the stress. From these results, it was suggested that the immobilization stress induce the brain oxidative damage. However the oxidative damage was inhibited by feeding Rooibos tea containing various antioxidants, such as polyphenol, flavonoid and so on. Therefore, Rooibos tea have the protective effects against the stress caused by the ROS mediated cellular damage.

Keyword: rooibos tea, oxidative damage, antioxidant, stress

서론

스트레스는 1925년경 Walter Cannon이 처음 사용한 용어로서 "투쟁 또는 도피 반응"에 관련된 용어로 사용되기 시작하면서 의학과 생물학에 도입되었다⁽¹⁾.

생체는 스트레스를 받게 되면 catecholamine 계통의 스트레스 호르몬 및 스테로이드 호르몬을 분비하고, 이들은 다음에 가해질지도 모르는 스트레스를 대비하기 위하여 생체내 에너지 대사를 증진시키므로 산소 소모량이 증가된다⁽²⁾. 산소는 유기 호흡을 하는 생물에 있어서 필수적이지만 에너지 대사 과정에서 불완전하게 환원될 때 발생하는 활성 산소종(reactive oxygen

species, ROS)은 단백질 및 지질과 같은 세포내의 거대 분자를 산화시킴으로써 세포의 항상성을 파괴시키고, 세포를 사멸시킬 수 있으며, 이런 손상의 축적이 노화 및 다양한 퇴행성 질병의 원인으로 받아 들여지고 있다⁽³⁾. 이런 활성 산소는 에너지 대사 과정 뿐만 아니라 xanthine oxidase와 같은 oxidase의 작용이나 cytochrome P450과 같은 약물 대사 효소의 반응상에서도 발생하며, 에너지 대사의 증가는 더욱 많은 ROS의 발생을 야기한다⁽⁴⁾. 그런데 생체는 활성 산소의 파괴적 행동을 막기 위한 superoxide dismutase (SOD), catalase 등의 효소적 방어 체계와 vitamin C, vitamin E 등의 비효소적 방어 체계로 구분되는 항산화 방어 시스템을 보유하고 있다. 그러나 순간적으로 과량의 활성 산소가 발생하거나 만성적으로 활성 산소가 발생하는 등, 활성 산소와 항산화 방어체간의 균형이 무너지면

Corresponding author: Sangmo Kang, Department of microbial engineering, Konkuk University, 93-1, Mojin-dong, Kwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea

세포는 손상을 받게 된다⁶⁾.

현재까지 활성 산소의 독성을 억제하기 위해서 체내의 항산화 방어 체계를 강화시키는 방법을 연구하고 있으나 소화기관에서의 흡수, 조직으로의 분배 등의 문제로 인한 난점을 완전히 극복하지 못하고 있다. 이러한 시도중 특히, 체내의 항산화 방어계의 근간을 이루는 SOD를 이용하는 방법이 응용되고 있으나, 경구 복용시 위장관에서 파괴되거나 소화관에서 원상태로 흡수가 난해해 큰 효과를 보지 못하고 있으며, liposome에 포집하여 혈관 주사하는 방법이 개발되어 몇몇 증상에 대해서만 효과를 나타내고 있는 정도이다. 따라서, SOD와 유사하게 높은 항산화 활성을 가지면서 소화관에서의 흡수가 쉬운 SOD 유사물질(SOD-like substances)의 개발이 절실한 실정이다⁶⁾.

본 연구는 쉽게 응용할 수 있는 차종류이면서 높은 항산화 활성을 지닌 flavonoid, polyphenol 등의 천연 항산화제를 다량 함유하고 있는 루이보스티(Rooibos tea)⁷⁾를 흰 쥐에게 투여한 후 스트레스로 인해서 나타나는 생체내 산화적 손상에 대한 방어 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

실험 동물과 루이보스티 처리

실험동물은 140~160 g의 체중을 가지는 웅성 rat를 제일 동물 실험 센터(주)로부터 분양 받아 사용하였다. 실험 동물은 난과법으로 대조군(No stress), 스트레스군(Stress), 루이보스티 음용군(RT)으로 분류하였으며(n=7), 4주동안 매일 동일 시간에 스트레스군과 루이보스티 음용군에게 1시간동안 고정화 스트레스를 가하였다⁸⁾. 식이는 자유 급식하였으며, 대조군과 스트레스군에게는 tap water를 공급하였고, 루이보스티 투여군은 시판되는 식용 루이보스티 3 g을 물 200 mL 되도록 30분간 끓인 후 1일 1마리의 실험 동물당 30 mL씩 공급하였다.

실험 동물은 매주 1회씩 체중을 측정하였고, 실험전 24시간동안 절식시킨 후 ether에 마취시켜 심장에서 혈액을 채취하였고, 즉시 뇌 조직을 적출하여 액체 질소에 냉동시킨 후 실험전까지 보관하였다.

5-Hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) 분석

Serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT)의 최종 대사 산물인 5-HIAA의 정량은 다음과 같이 하였다⁹⁾. 뇌 조직은 조직 무게 15배의 acidic n-butanol을 가한 후 마쇄하여 균질액을 얻었다. 이 균질액 2.5 mL에 0.5 M

phosphate buffer (pH 7.0) 0.3 mL을 가하고 1분간 강하게 교반한 후, 원심분리하여 하층액을 취한 다음 0.4 mL씩을 각각 A, B 시험관에 분주하였다. 분주 후 A 시험관에는 1% cystein 용액 0.04 mL을 가하고, A, B 시험관 모두에 HCl 원액을 1 mL을 넣은 다음 A 시험관에만 0.1% o-phthalaldehyde (OPT)용액 0.04 mL과 5% sodium peroxide 용액 0.04 mL을 넣었다. 30분 후에 B 시험관에 0.04 mL cysteine 용액과 OPT 용액 0.04 mL을 넣고 A, B 시험관을 95°C에서 10분간 반응시킨 후 냉각시켰다. 이 반응액의 형광도를 excitation 360 nm, emission 470 nm에서 측정하고, A, B 시험관의 차를 이용하여 표준시료와 비교 정량 분석하였다. 표준시료로는 5-HIAA (15 µg/mL) 용액을 phosphate buffer (pH 7.0)로 100배 희석하여 사용하였다.

산화적 손상의 분석

혈액 및 조직의 지질과산화물은 변형된 Yagi 법¹⁰⁾에 의해 지질과산화의 2차 산물인 malondialdehyde와 thiobarbuturic acid (TBA)간의 반응을 통해서 생성된 물질의 형광도를 측정하여 비교 정량하였다. 시료 0.1 mL에 TBA 용액(1% TBA : acetic acid : D.W.=1 : 1 : 3, v/v/v) 5 mL과 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2 mL을 첨가한 후 끓는 물에서 1시간 동안 반응시키고 n-butanol 5 mL을 첨가하여 강하게 교반한 후 n-butanol 층을 취하여 excitation 515 nm, emission 553 nm에서 형광도를 측정하였다.

단백질 분해도는 fluorescamine을 이용하는 Davies 등의 방법¹¹⁾에 의해서 glycine을 표준 물질로 하여 비교 정량하였다. 시료 0.25 mL에 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.4) 0.75 mL과 20% TCA 0.1 mL을 첨가하고 원심 분리한 후 이 상등액 0.25 mL에 0.3% fluorescamine (in acetone) 0.5 mL과 HEPES buffer (pH 9.0) 1.25 mL을 첨가하여 25°C에서 15분간 반응시킨 후, excitation 375 nm, emission 425 nm에서 형광도를 측정하였다.

체내 항산화 방어계의 분석

3개의 아미노산으로 구성된 glutathione의 분석은 o-phthalaldehyde와 반응성을 통해서 정량하는 Cohn 등의 방법¹²⁾을 이용하였다.

SOD는 pyrogallol의 자동 산화를 억제하는 정도를 측정하는 Murkland의 방법¹³⁾을 이용하여 분석하였고, catalase의 활성은 H₂O₂의 자체 흡광도를 이용하는 Aebi의 방법¹⁴⁾을 이용하여 측정하였다.

Glutathione reductase (GR)는 산화형 glutathione (GSSG)

를 환원하며 감소하는 NADPH의 양을 측정하여 간접 결정하였고, glutathione peroxidase (GPx)는 환원형 glutathione (GSH)을 GSSG로 산화 시킨 것을 GR가 다시금 GSH로 환원시키면서 생성되는 NADPH의 양을 측정하여 결정하였다⁽¹⁵⁾.

루이보스티의 항산화력 측정

Peroxyl radical 발생제인 2,2'-azobis (amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)를 이용하여 루이보스티 추출액의 항산화력을 측정하였다⁽¹⁶⁾. 지질과산화 억제 작용의 측정을 위해서 각 농도의 AAPH와 대표적 불포화 지방산인 oleic acid를 반응 시킨 후 TBA법에 따라 생성된 지질 과산화물을 정량하였고, 단백질 과산화 억제 작용을 알아 보기 위해서 lysozyme (Bovine liver)을 시료로 하여 단백질 분해도를 측정하였다. 즉, 100 mM의 oleic acid 또는 100 mg/mL 농도의 lysozyme 용액 0.1 mL에 각 농도의 AAPH 용액 0.1 mL과 0.8 mL의 PBS를 첨가하여 1시간동안 산화 반응 시킨 후, 여기서 시료를 취하여 위와 같은 방법으로 지질과산화와 단백질 분해도를 측정하였다. 또한, 같은 조건에서 실험 동물에게 투여한 루이보스티 추출액 0.1 mL을 첨가하여 루이보스티의 항산화력을 측정하였다.

실험 결과 및 통계

각 실험 결과는 평균±표준 편차의 형태로 표시 하였으며, 각 구간간의 유의성 검증은 student t-test를 이용하여 검증하였고, 유의성이 있는 결과에 한해서 도시 하였다.

결과 및 고찰

루이보스티의 항산화력 측정

AAPH는 수용액상에서 일정 속도로 peroxy radical을 발생시키는 물질로서, 발생 속도가 균일하기 때문에 ROS의 반응 역학 연구에 널리 이용한다⁽¹⁶⁾. AAPH를 불포화 지방산인 oleic acid 및 단백질인 lysozyme과 함께 반응하여 peroxy radical에 의한 지질 및 단백질의 산화적 손상정도를 관찰한 결과는 Fig. 1(A) 및 1(B)와 같다. AAPH는 농도 의존적으로 단백질과 지질에서 모두 과산화를 증가시키는 것으로 나타났으며, 특히 10~50 mM 구간에서 그 변화가 심하였다. Fig. 1(A)에서 보이는 바와 같이 oleic acid는 50 mM 이후에서 과산화물의 급격한 증가는 관찰되지 않았으며 루이보스티 추출물의 첨가로 높은 손상 억제율을 보여 루이보스티 추출액이 peroxy radical에 의한 산

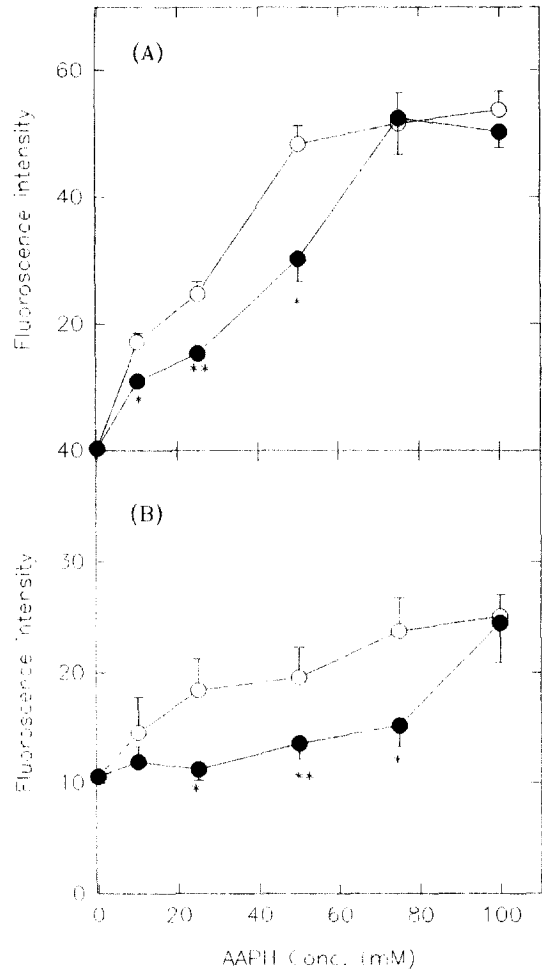


Fig. 1. Protective effects of Rooibos tea extracts against AAPH-induced oleic acid (A) and lysozyme (B) peroxidation. Symbols: AAPH alone (○—○) AAPH+rooibos tea extract (●—●). *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$: significantly different from same AAPH Conc.

화적 손상으로부터 지방산을 보호하는 것으로 관찰되었다.

Lysozyme의 산화적 손상은 75 mM 부근까지 증가 하였으나 그 이하의 농도에서 oleic acid에 비하여 급격한 증가점이 없이 완만한 비율로 증가가 나타났다. Lysozyme의 산화적 손상중 특히 25 mM이하의 낮은 농도에서 oleic acid에 비해서 높은 과산화 손상율을 보였으며, 루이보스티 추출액의 첨가는 오히려 oleic acid에 비해서 더 높은 보호 활성을 보여주었다.

일정 농도 이상의 ROS 발생제에서 oleic acid의 과산화값 및 단백질 분해도가 증가하지 않는 것은 생성된 ROS간의 반응으로 반응성이 없는 안정적 물질이

생성되므로, oleic acid의 과산화 작용보다는 자신들간의 반응으로 스스로 안정화되는 모습을 보인 것으로 생각된다. 이런 반응액에 루이보스티가 첨가되었을 때 모두 방어 활성을 보였으며, 지질에 비해서 단백질에 대해 더 높은 활성을 보였다. 이는 루이보스티가 열수에서 추출되었기 때문에 수용성 물질이 주를 이룰 것으로 생각되며 이러한 극성의 차이가 지방산보다 단백질에 대해서 루이보스티가 더 높은 활성을 보일 수 있었던 이유로 생각된다. 또한 높은 AAPH 농도에서 루이보스티의 항산화 효과가 거의 관측되지 않은 것은 루이보스티 성분의 농도에 비해서 과량의 ROS가 발생하여 루이보스티의 항산화 활성을 넘어섰기 때문으로 생각된다.

스트레스로 인한 생체내 변화

실험 기간인 4주동안 실험 동물의 체중 증가량의 차이는 Table 1과 같다. 실험 기간동안 대조군의 경우 104.5±15.7 g이었으나 스트레스군의 경우 81.3±10.2 g으로 체중 증가량이 감소하는 현상이 나타났다(p<0.05). 스트레스가 거식증과 체중 감소를 유도한다는 Morley 등의 보고⁽¹⁷⁾에서 볼 수 있듯이 스트레스로 인한 체중 감소는 스트레스의 가장 일반적인 현상이라고 볼 수 있다. 따라서, 4주 동안 스트레스를 가했을 때 체중 증가량이 감소하는 것은 스트레스가 정상적으로 가해지고 있으며, 이러한 스트레스로 인해서 생체내의 변화가 수반됨을 알 수 있다. 스트레스를 가하면서 동시에 루이보스티를 투여한 루이보스티군에서 체중 증가량은 89.9±14.6 g으로 스트레스군과 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 체중 증가량 감소가 둔화되는 양상을 보여 루이보스티가 외부에서 가해지는 스트레스에 대해서 방어 기전을 가질 수 있음을 추측할 수 있다.

체중 증가량 감소로 나타나는 스트레스의 생화학적 변화를 관찰하기 위해서 스트레스의 지표 호르몬인 serotonin의 최종 대사 산물인 5-HIAA를 조직에서 정량한 결과는 Fig. 2와 같다. Curson 등은 식이 제한과 고정화 스트레스에 의해서 뇌의 5-HIAA의 함량이 증가한다고 보고한바와 같이⁽¹⁸⁾, 뇌 조직에서 5-HIAA의

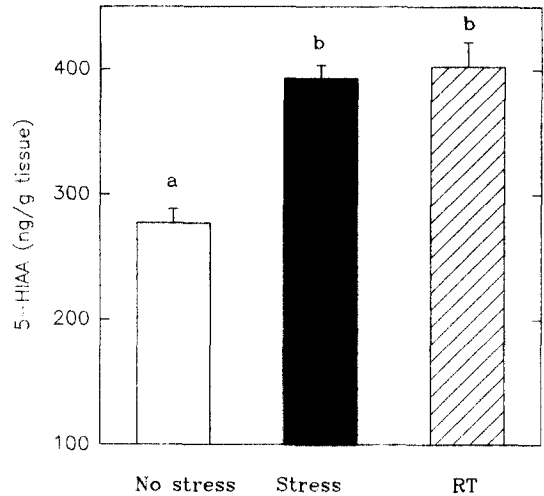


Fig. 2. Changes of 5-HIAA contents in rat brain after immobilization stress for 4 weeks (RT: Stress+Rooibos tea extract). Means with the same alphabets are not significantly different at p<0.05.

함량은 스트레스군과 루이보스티 투여군에서 급속한 증가를 보였으며(p<0.05) 스트레스군과 루이보스티군의 차이는 발견되지 않았다. 체중 증가량에서 루이보스티의 투여가 스트레스로 인한 체중 증가량 감소에 대한 방어 효과를 나타내었으나, 스트레스 호르몬에 대해서 감소가 나타나지 않은 것으로 비추어 볼 때 루이보스티가 외부에서 가해지는 스트레스에 대한 저항성을 증가시키는 것은 스트레스 반응 자체를 억제하는 것이 아닌 스트레스와 연관된 다른 기전의 방어의 결과로 추측된다.

스트레스로 인한 산화적 손상의 증가

ROS 발생의 측정 방법은 electron spin trap (ESR)과 같은 직접적인 측정 방법과 변성된 지질, 단백질을 정량하는 간접적인 측정 방법이 있다. ESR을 이용하는 방법은 매우 정확하나 실제로 *in vivo*에서의 실험에는 ESR측정에 사용되는 probe를 축적시켜야 하는 등 여러 가지 어려운 점이 있어 잘 사용되지 않는다. 간접 측정법은 지질과산화물의 2차 대사 산물인 malondialdehyde를 정량하는 TBA법이 널리 사용되고 있으며 단백질의 carbonyl기 증가를 측정하거나 변성된 단백질이 단백질 분해 효소에 의해서 분해되어 나타나는 현상인 단백질 분해도를 측정하는 방법을 최근 들어 많이 사용하고 있다⁽¹⁹⁾.

실험 동물의 뇌 조직과 혈장에서 지질과산화물을 정량한 결과는 Fig. 3과 같이 뇌 조직에서는 스트레스

Table 1. Body weight change during 4 weeks

| Group | Weight-gain (g) |
|--------------------|-------------------------|
| No stress | 104.5±15.7 ^a |
| Stress | 81.3±10.2 ^b |
| Stress+Rooibos tea | 89.9±14.6 ^{ab} |

Means with the same alphabets are not significantly different at p<0.05.

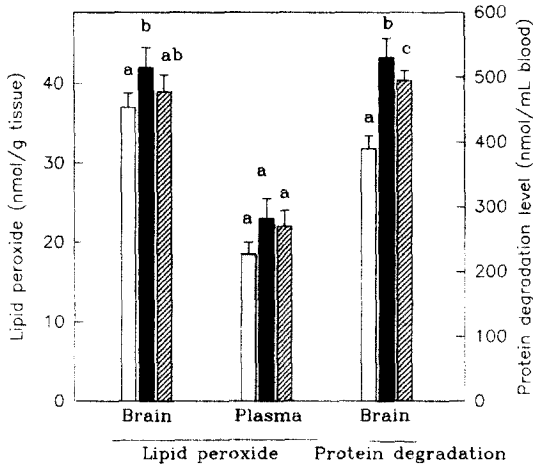


Fig. 3. Lipid peroxide formation and protein degradation level rat brain after immobilization stress for 4 weeks. Symbol: No stress (□), Stress (■), Stress+rooibos tea extract (▨). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$.

군이 대조군에 비하여 유의적으로 지질과산화물이 증가하였으나 혈장에서는 큰 변화가 관찰되지 않았으며, 단백질 분해도를 측정된 결과도 뇌 조직에서 스트레스군이 대조군에 비해서 유의적으로 증가하는 모습을 보여주었다($p < 0.05$). 그러나 루이보스티의 투여가 지질과산화물을 유의적으로 억제하지는 못한 반면에 단백질 분해도에 있어서는 유의적인 차이로 억제하여 대조를 이루었다.

뇌 조직에서 지질과산화와 단백질 분해도가 증가한 것은 스트레스로 인해서 ROS가 발생했음을 간접적으로 나타내는 것으로 생각된다. 그러나 혈장에서 지질과산화물의 증가는 나타나지 않았는데, 실제로 혈장의 지질과산화물은 체내의 지질과산화물의 생성을 대표하는 것으로 조직에서 방출된 malondialdehyde에 의해서 측정 할 수 있다. 따라서, 스트레스로 인해서 생성된 ROS는 뇌 조직에 많은 손상을 주나 다른 타 조직에는 큰 영향을 주지 못한 것으로 생각된다. 또한, 뇌 조직에서 루이보스티의 투여가 지질보다 단백질에 대해서 더 높은 항산화 활성을 보인 것은 열수로 추출한 루이보스티가 비극성의 지질보다 극성의 단백질에 대해서 더 높은 항산화 활성을 보인 Fig. 1의 *in vitro* 상에서 나타난 항산화력 결과와 상응하는 결과로 루이보스티 추출물의 극성 효과로 생각된다.

또한, 세포내 비효소적 항산화계를 대표하는 glutathione의 함량은 스트레스군이 대조군에 비해서 유의적이지는 않으나 낮은 양상을 나타내었고, 루이보스티의 투여군의 경우는 스트레스군보다 유의적으로 높

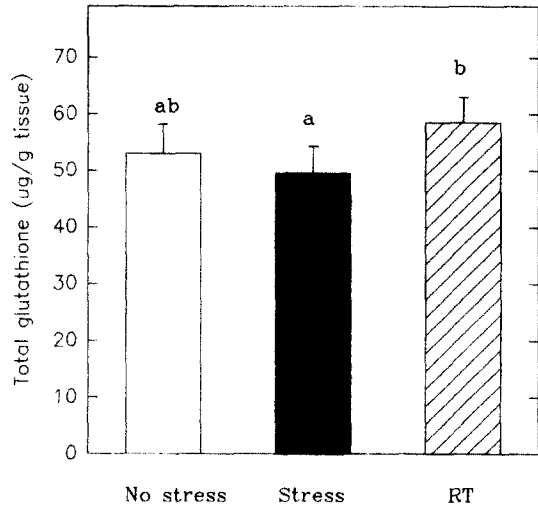


Fig. 4. Change of total glutathione level in rat brain after immobilization stress for 4 weeks (RT: Stress+Rooibos tea extracts). Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$.

은 glutathione 함량을 보였다(Fig. 4). 이는 스트레스로 인해서 비효소적 방어 기구의 대표적 물질인 glutathione이 감소하면서 스트레스에 의한 산화적 손상의 증가를 가져왔다고 생각되며, 루이보스티 투여군이 스트레스군에 비해서 높은 glutathione 함량을 보여준 것은 루이보스티의 투여가 생체내의 수용성 항산화 방어 기구의 강화에 도움을 주었기 때문으로 생각된다. 수용성 항산화제인 glutathione은 단순히 수용성 물질의 방어뿐만 아니라 생체막에서 높은 활성을 보이는 vitamin E의 환원 기작에도 관여하는 것으로 알려져 있어 glutathione의 증가가 직접적으로 단백질을 보호하여 단백질 분해도를 낮춘 것 뿐만 아니라 vitamin E의 재생 기작에도 관여하여 유의적이지는 않았지만 지질과산화의 감소를 가져온 것으로 생각된다⁽²⁰⁾.

체내 항산화 효소계의 변화

스트레스를 4주동안 가한 후 뇌 조직에서 대표적 항산화 효소인 SOD, catalase, GPx 및 GR의 활성을 측정된 결과는 Table 2와 같다.

뇌 조직에서 스트레스에 의한 SOD, GPx, GR의 유의적인 활성 변화는 관찰되지 않았으며, 루이보스티의 투여도 이들 효소 활성에 큰 영향을 주지 못하였다. 그러나 catalase의 경우 스트레스에 의해서 유의적으로 활성이 감소하였으며, 루이보스티의 투여가 catalase 활성 감소 억제 효과를 나타내었다. 세포내에

Table 2. Changes of antioxidative enzyme activity in rat brain for 4 weeks

| Group (unit/mg protein) | Superoxide dismutase | Catalase | Glutathione peroxidase | Glutathione reductase |
|----------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------|
| No stress | 2.14±0.11 ^a | 1.67±0.15 ^b | 0.68±0.09 ^d | 0.38±0.07 ^e |
| Stress | 1.89±0.21 ^a | 1.14±0.11 ^c | 0.73±0.13 ^d | 0.37±0.09 ^e |
| Stress+Rooibos tea | 1.98±0.09 ^a | 1.49±0.20 ^b | 0.65±0.04 ^d | 0.39±0.04 ^e |

Means with the same alphabets are not significantly different at $p < 0.05$.

서 ROS가 발생했을 때 ROS에 민감한 형태를 가진 glutamin synthase 등의 활성 감소가 ROS에 의한 산화적 손상의 지표로 사용되는 것을 감안할 때⁽²⁰⁾ SOD, GPx, GR 등은 모두 ROS의 방어 기작으로 ROS에 대한 저항성이 높아 스트레스로 인해 발생된 ROS에 대해서 활성 감소가 나타나지 않은 것으로 생각된다. 그러나 catalase의 경우 superoxide anion이 직접적으로 catalase의 활성을 억제한다는 보고⁽²¹⁾에 미루어 볼 때, 스트레스에 의해서 superoxide anion의 양이 증가하였으나 SOD의 활성이 증가하지 않아 처리되지 못한 superoxide anion이 catalase를 저해한 것으로 생각된다. 더욱이 SOD의 활성 결과 생성되는 catalase의 기질인 H₂O₂는 양극성 물질로 세포막을 투과하며 금속 이온에 촉매되어 매우 강력한 반응성을 가진 hydroxyl radical을 형성하기 때문에 스트레스군에서 catalase의 활성 감소가 지질과산화 및 단백질 분해도와 같은 산화적 손상으로 나타난다고 생각된다. 루이보스티 투여군의 경우 catalase의 활성이 스트레스군에 비해 보호를 받았으며 단백질 분해도와 지질과산화 감소된 것은 루이보스티가 생성된 superoxide anion을 제거하거나 또는 catalase의 활성 감소로 생성될 가능성이 높아진 hydroxyl radical에 대해서 높은 소거능을 가졌기 때문으로 생각된다.

따라서, 루이보스티가 스트레스 자체보다는 스트레스로 인해 발생하는 ROS의 독성을 억제함으로써 항스트레스 효과가 있다고 생각되며, 이런 루이보스티의 효과는 효소 활성과 같은 체내 항산화계의 강화가 아닌 루이보스티 구성분인 flavonoid 배당체 등의 효과로 생각된다⁽⁷⁾.

루이보스티는 쉽게 음용이 가능한 차의 일종으로 ROS에 대한 높은 소거능을 지닌 것으로 사료되며 다양한 퇴행성 질병을 유발하는 ROS에 대해서 SOD 유사 물질로서 작용이 가능하다고 생각된다.

요 약

스트레스에 의해서 생체는 에너지 대사를 증가시키며, 에너지 대사의 증가는 높은 반응성의 ROS를 생성

한다. ROS는 높은 반응성으로 인해 지질, 단백질 등을 과산화시켜 원래의 활성을 잃게함으로 이런 ROS에 대해서 높은 소거능을 지니고 흡수가 쉬운 SOD 유사물질의 투여가 스트레스로 인한 생체내 산화적 손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 이것을 확인하기 위해서 실험용 흰 쥐에게 4주간의 고정화 스트레스를 가한 결과, 체중 증가량을 감소시켰으며 스트레스 호르몬의 하나인 5-HIAA의 수준을 증가시켰다. 시험관에서 높은 항산화력을 확인한 루이보스티 추출액을 스트레스를 받은 흰 쥐에게 투여한 결과는 체중 증가량 감소는 완화시켰으나 5-HIAA의 수준을 변화시키지 못하여 스트레스 반응 자체를 억제하지 않는 것으로 판명되었다. 루이보스티의 투여는 스트레스로 인해 유도되는 뇌 조직의 지질과산화와 단백질 산화를 억제하였으나 SOD, GPx 등의 대표적 항산화 효소 활성의 변화를 유발하지 않았다. 따라서, 루이보스티는 스트레스 반응 자체보다는 그에 따른 2차적 독성 대사산물에 대해서 효소 활성의 증가가 아닌 루이보스티 추출액의 구성분 자체가 세포를 보호한 것으로 생각되며, 루이보스티의 추출액이 열수하에서 추출된 것이기 때문에 지질과산화에 대해서보다 단백질 과산화에 대해 더 높은 보호 활성이 나타난 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 1997년 건국대학교 산업 기술 연구원(주) 삼양 식품의 연구비 지원에 의해 행해졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Seley, H.: The Stress of life. New York, p.5-27 McGraw-Hill (1976)
2. Kennet, G.A., Dickson, S.L. and Curson, G.: Enhancement of some 5-HT dependent behavioural response following repeated immobilization in rats. *Brain Res.* **330**, 253-263 (1985)
3. Bulkley, G.B.: The role of oxygen radicals in human disease process. *Surgery.* **94**(3), 407-411 (1983)
4. Shaw, S. and Jayatileke, E.: The role of cellular oxidases

- and catalytic iron in the pathogenesis of ethanol-induced liver injury. *Life Sci.* **50**, 2045-2052 (1992)
5. John, N.C. Gutteridge. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* **41**(12), 1819-1828 (1995)
 6. Yoshikawa, T. Naito, Y. and Kondo, M.: Antioxidants in the therapy and preventive medicine. Ed. I. Emeril, Plenum. Press. New York, p. 171, 1990
 7. Ito, A. Shinohara, K. and Kator, K.: Proceedings of the international symposium in tea science. The Organizaing Committee of ISTS. Shizuoka, p. 381 (1991)
 8. Park, M.H.: Oxidative damage by stress and effects of antioxidative vitamins Doctorate treatise on Food and nutrition. Hanyang University. 1995
 9. Curzon, G. and Knott, P.J.: Rapid method for the determination of 5-hydroxytryptamine and hydroxyindole acetic acid in small regions of brain. *J. Neurochem.* **19**, 1967-1974 (1972)
 10. Yagi, K.: A simple fluoremetric assay for lipoperoxide in blood plasma. *Biochem. Med.* **15**, 212-216 (1976)
 11. Davies, K.J.A. and Glodberg, A.L.: Protein damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cell. *Biol. Chem.* **262**, 8227-8235 (1987)
 12. Hissin, P.J. and Hilf, R.: A fluoremetric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues, *Anal. Biochem.* **74**, 214-226 (1976)
 13. Murklund, S. and Marlund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *J. Biochem.* **47**, 469-474 (1974)
 14. Aebi, H.: Catalase In Methods of enzymatic analysis. H. U. Vergmeyer, eds. Vol 2. Academic press. New York. p. 673-684 (1974)
 15. 谷口直之: 活性酸素實驗 プロトコル, 秀倫社, p. 116-119 (1994)
 16. Niki, E.: Free radical initiators as source of water- and lipid-soluble peroxy radical. In *Oxygen radicals in biological system*. Packer, L. Academic press. p.112-121 (1992)
 17. Morley, J.E. and Levine, A.S.: Stress-induced eating is mediated through endogenous opiates. *Science.* **209**(12), 9-12 (1980)
 18. Curson, G. and Knott, P.J.: Effects of immobilization food deprivation on rat brain tryptophan metabolism. *J. Neurochem.* **19**, 1967-1974 (1972)
 19. Levine, R.L., Garland, D., Oliver, C.N. and Stadtman, E. R. Determiantion of carbonyl content in oxidatively modified proteins. Methods in Enzymology, Ed. Levine, R.L. 186, p. 464 (1990)
 20. Kameda, K., Imai, M. and Senjo, M.: The effects of vitamin E deficiency on some erythrocyte membrane properties. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **31**, 481-490 (1985)
 21. Yasuhira, K. and Fridovich, I.: Superoxide radicals inhibits catalases. *J. Biol. Chem.* **257**, 5751-5754 (1982)

(1998년 4월 14일 접수)