

# 특집: 생리활성물질의 최근 연구동향(I)

## 천연 항산화제 개발연구

김 종 평

생명공학연구소 세포기능제어 R.U.

산소는 지구상에서 가장 많은 원소이며, 호기성 생물은 이렇게 풍부한 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통해 에너지를 획득한다. 그러나 생명유지에 절대적으로 필요한 산소이지만 안정한 분자상태인 기저삼중항산소(ground state triplet oxygen)가 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 슈퍼옥사이드 라디칼 (superoxide radical,  $O_2^{\cdot-}$ ) 하이드록실 라디칼 (hydroxyl radical,  $HO^{\cdot}$ ), 과산화수소(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ ), 일중항산소(singlet oxygen,  $^1O_2$ )와 같은 반응성이 매우 큰 활성산소(active oxygen)로 전환되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키는 양면성을 지니고 있다[1-8]. 즉, 이들 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 함으로써[9-16] 노화 및 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자기면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(그림 1, 표 1) [17-28]. 또한 이들 활성산소에 의한 지질과산화 결과 생성되는 지질과산화물을 비롯하여 여러 가지 체내 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 기능장애를 야기함으로써

여러가지 질병의 원인이 되기도 한다[29].

한편, 정상적인 세포에서도 대사과정 중 어느 정도의 free radical과 기타 활성산소 및 과산화물이 생성되고 있으나(그림 2) 생체내에는 이들에 대한 방어기구로서 superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase 등의 항산화효소와 함께 vitamin E, vitamin C, glutathione, ubiquinone, 요산 등과 같은 항산화물질이 존재하여 스스로를 보호하고 있다[30-39]. 그러나 이와 같은 생체방어기구에 이상이 초래되거나 각종 물리적, 화학적 요인들에 의하여 활성산소의 생성이 생체방어계의 용량을 초과하게 될 경우 산화적 스트레스(oxidative stress)가 야기된다. 따라서 이와 같은 free radical을 소거할 수 있는 화합물(free radical scavengers) 또는 과산화물 생성 억제물질과 같은 항산화제들은 이들 산화물들에 기인하는 노화 및 각종 질환의 억제 또는 치료제로서 기대된다.

본 고에서는 이와 같은 산화적 스트레스에 의해 일어나는 노화 및 각종 질환의 억제 및 치료를 위한 목적으로 연구되고 있는 천연 항산화제 개발연구 동향에 관하여 논하고자 한다.

### 항산화제 개발연구 동향

항산화제에 대한 연구는 1969년 McCord와 Fridovich[40]가 superoxide radical을 소거하는 효소인 SOD를 발견한 것을 계기로 생체내의 활성산소의 발생, 생물독성 및 방어·소거기구 등에 관하여 관심을 갖게 되면서 본격적으로 진행되었다. 주로 식품 첨가물로서의 항산화제 개발을 위한 연구에서 최근 각종 질병 및 노화 등에 활성산소 및 과산화물이 직접적인 원인으로 작용한다는 사실이 밝혀지면서 항산화제 연구는 노화 억제 및 질병치료제로서의 항산화제를 찾는 연구로 전환되고 있는 실정이다.

지금까지 개발되어 사용되고 있는 항산화제로는 tert-butylhydroxytoluene(BHT), tert-butylhydroxyanisol(BHA) 등과 같은 합성 항산화제,  $\alpha$ -tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids, 탄닌 등과 같은 일부 천연 항산화제[41, 42] 및 SOD와 같은 항산화 효소[43]에 국한되어 있는 실정이다. 그런데 이들 항산화제는 독성, 저활성 및 용도의 한계성 등의 여러 가지 문제로 인하여 사용에 제한을 받고 있다. 따라서 보다 안전하면

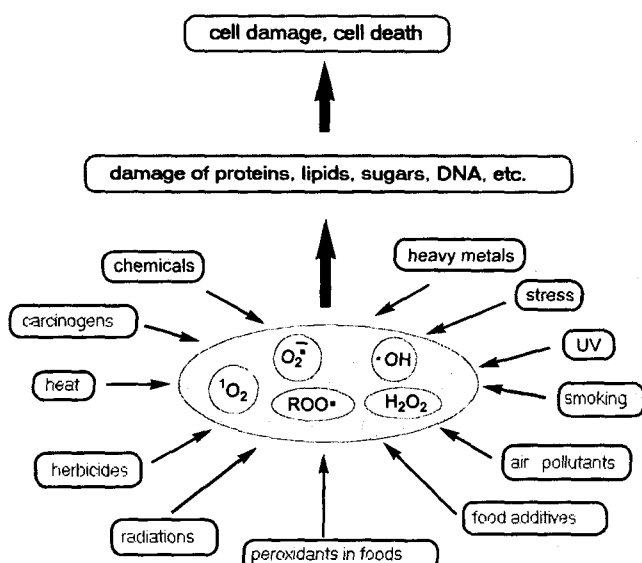


그림 1. Free radical을 발생하는 환경인자.

표 1. Free radical이 관여된 질환

|  |   |
|--|---|
| <b>Inflammatory-immune injury</b>                      | <b>Alcoholism</b>   |
| Glomerulonephritis (idopathic, membranous)             | Alcohol-induced iron overload                               |
| Vasculitis (hepatitis B virus, drugs)                  | Alcohol myopathy  |
| Autoimmune diseases                                    | <b>Heart and cardiovascular system</b>                      |
| Rheumatoid arthritis                                   | Alcohol cardiomyopathy                                      |
| <b>Ischemia-reflow states</b>                          | Kesham disease (selenium deficiency)                        |
| Stroke/myocardial infarction/arrhythmias               | Atherosclerosis   |
| Organ transplantation                                  | Adriamycin cardiotoxicity                                   |
| Inflamed rheumatoid joint                              | <b>Kidney</b>   |
| Frostbite  | Autoimmune nephrotic syndromes                              |
| Dupuytren's contracture                                | Aminoglycoside nephrotoxicity                               |
| Dysbaric osteonecrosis                                 | Heavy metal nephrotoxicity (Pb, Cd, Hg)                     |
| <b>Iron overload</b>                                   | <b>Gastrointestinal tract</b>                               |
| Idopathic haemochromatosis                             | Endotoxic liver injury                                      |
| Dietary iron overload (Bantu)                          | Halogenated hydrocarbon liver injury                        |
| Thalassemia and other chronic anemias                  | (bromobenzene, carbon tetrachloride, haloethane)            |
| treated with multiple blood transfusions               | Diabetogenic action of alloxan                              |
| Nutritional deficiencies (kwashiorkor)                 | Pancreatitis  |
| <b>Radiation injury</b>                                | NSAID-induced gastrointestinal tract lesions                |
| Nuclear explosions                                     | Oral iron poisoning   |
| Accidental exposure                                    | <b>Brain/nervous system/neuro-muscular disorders</b>        |
| Radiotherapy   | Hyperbaric oxygen   |
| Hypoxic cell sensitizers                               | Vitamin E deficiency  |
| <b>Aging</b>   | Neurotoxins, including lead                                 |
| Disorders of premature aging                           | Parkinson's disease   |
| <b>Red blood cells</b>                                 | Neuronal ceroid lipofuscinoses                              |
| Phenylhydrazine  | Hypertensive cerebrovascular injury                         |
| Primaquine, related drugs                              | Allergic encephalomyelitis and other demyelinating diseases |
| Lead poisoning   | Aluminum overload (Alzheimer's disease)                     |
| Protoporphyrin photooxidation                          | Potential of traumatic injury                               |
| Malaria  | Muscular dystrophy  |
| Sickle cell anemia                                     | Multiple sclerosis  |
| Favism   | <b>Eye</b>  |
| Fancini's anemia                                       | Cataractogenesis  |
| Hemolytic anemia of prematurity                        | Ocular hemorrhage   |
| <b>Lung</b>  | Degenerative retinal damage                                 |
| Emphysema  | Retinopathy (retroental of prematurity fibroplasia)         |
| Cigarette smoke effects                                | Photic retinopathy  |
| Bronchopulmonary dysplasia                             | <b>Skin</b>   |
| Oxidant pollutants (O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> ) | Solar radiation   |
| Adult respiratory distress syndrome                    | Thermal injury  |
| Mineral dust pneumoconiosis                            | Porphyria   |
| Asbestos carcinogenicity                               | Hypericin, other photosensitizers                           |
| Bleomycin toxicity                                     | Contact dermatitis  |
| SO <sub>2</sub> toxicity                               |   |
| Paraquat toxicity                                      |   |

서도 강한 항산화제를 미생물 대사산물을 비롯한 각종 천연물로부터 탐색하는 연구가 활발히 수행되고 있다. 연구의 대상이 되는 항산화물질도 지질과산화물 생성 억제물질(lipid peroxidation inhibitor)에서 생체내에서 산화적 피해를 야기하는 직접적인 원인이 되는 free radical 자체를 직접 소거하는 항산화제(free radical scavenger) 또는 free radical 및 활성산소 생성반응 자체를 억제하는 예방적 항산화물질(preventive anti-

oxidants)- xanthine oxidase 저해제 등- 과 같은 보다 적극적인 의미의 항산화제로까지 확대되고 있으며, SOD와 같은 고분자물질과 합성항산화제에서 실용성이 크고 안전한 저분자 천연 항산화제로 초점이 맞추어지고 있다(그림 3).

이러한 천연 항산화제의 개발 및 이의 응용을 위한 생물학적 기능 연구분야는 특히, 미국의 대학 및 연구소가 세계적 주류를 형성하고 있다. 특히, 산화작용과 항산화 방어기 및 생

|                         |   |
|-------------------------|---|
| xanthine oxidase        | $\text{hyperxanthine} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{xanthine} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{uric acid}$ $\text{acetaldehyde} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{acetic acid}$   |
| NAD(P)H oxidase         | $\text{NAD(P)H} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{NAD(P)}^+ + \text{H}^+$  |
| myeloperoxidase         | $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Cl}^- \longrightarrow \text{OCl}^- + \text{H}_2\text{O}$  |
| mitochondria            | $\text{NADH} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{fp}_1 \rightarrow \text{UbQ} \rightarrow \text{cyt. c}_1, \text{c}, \text{aa}_3 \rightarrow \text{O}_2$ $\text{succinate} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{fp}_2 \rightarrow \text{UbQ} \rightarrow \text{cyt. b} \rightarrow \text{O}_2$   |
| microsome               | $\text{NADPH} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{NADPH-P450 reductase} \rightarrow \text{P450} \rightarrow \begin{matrix} \text{hydroxylation} \\ \text{demethylation} \\ \text{reduction} \end{matrix}$ $\text{NADH} \xrightarrow{\text{O}_2, \text{O}_2^-} \text{NADH-cyt. b reductase} \rightarrow \text{cyt. b}_5 \rightarrow \begin{matrix} \text{fatty acid} \\ \text{desaturation} \end{matrix}$ |
| hemoglobin              | $\text{oxyhemoglobin (Hb-Fe}^{2+}\text{-O}_2) \xrightarrow{\text{H}_2\text{O}, \text{O}_2^-} \text{methemoglobin (Hb-Fe}^{3+}\text{-OH}_2)$   |
| prostaglandin synthesis | $\text{AA} \rightarrow \text{PGG}_2 \xrightarrow{\text{PGL}_2} \text{PGE}_2, \text{PGF}_{2\alpha}, \text{PGD}_2$ $\text{PGG}_2 \xrightarrow{\cdot\text{Ox} (\cdot\text{OH}?) } \text{PGH}_2 \rightarrow \text{PGE}_2, \text{PGF}_{2\alpha}, \text{PGD}_2$ $\text{PGG}_2 \rightarrow \text{TXA}_2 \rightarrow \text{TBX}_2$  |
| radiation               | $\text{H}_2\text{O}_2, (\text{O}_2) \longrightarrow \cdot\text{OH}, \text{e}_{\text{aq}}^-, \text{H}^+, \text{O}_2^{\cdot-}, \text{O}_2, \text{H}_2\text{O}_2$  |
| others                  | peroxidases, glucose oxidase, melanin, chlorophyl, etc.   |

그림 2. 생체내에서의 활성산소 생성양식.

물계에서 산화제와 항산화제의 연구가 중점적으로 수행되고 있으며, 최근 산화적 손상 및 이로부터 유발되는 갖가지 질병 으로부터 biological system을 보호하기 위한 방어기구로서 천연 항산화 활성물질들의 구명과 항산화 방어기작 및 이들 항산화제들의 gene expression 및 cell regulation 기작에 대하여 연구가 진행되고 있다. 이와 같은 연구를 위하여 산화적 손상을 유발시킨 transgenic animal이 개발되어 노화, 허혈, 피부질환, 장기손상, 당뇨, 암 등 실제 질병 모델계에서의 항산화제의 기능연구가 이루어지고 있다. 미국의 NIH의 경우 1993년 "Oxidative damage, antioxidant defense, and aging" 연구 과제와 함께 1997년 후반기부터 "Linking environmental agents, oxidative damage and disease" 연구 프로젝트를 수행하고 있으며, 미국내 연구기관에 연구비를 지원하고 있다.

천연항산화제 개발에 관한 연구는 현재 국외에서는 동경대학의 H. Seto 교수 등의 방선균 대사산물로부터 지질과산화억제제 및 뇌신경세포 보호물질로서 free radical scavenger를 탐색하는 연구, Berkeley 대학의 Lester Packer 교수 등이 "Novel, Natural Sources of Antioxidants and Cell Redox Re-생물산업

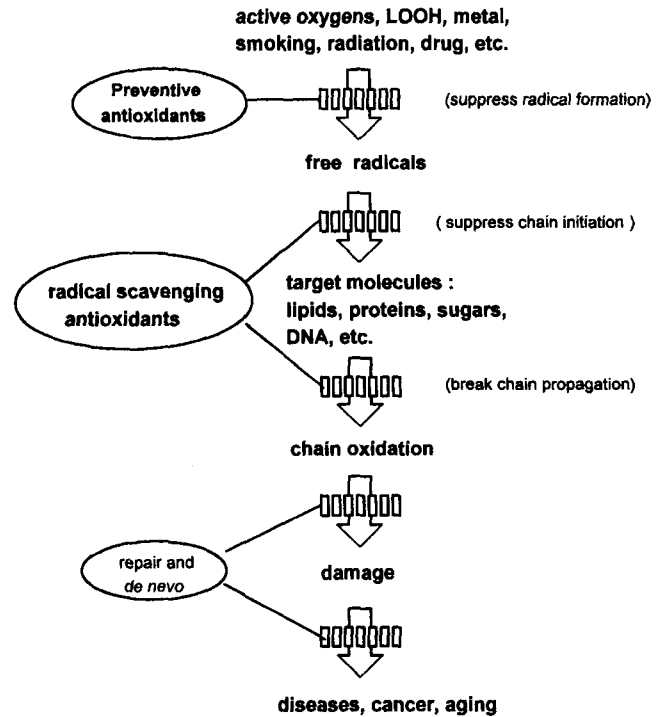


그림 3. Free radical에 의한 산화적 손상에 대항하는 항산화 방어.

gulation", "Investigation of the Antioxidant Protection Systems of Human and Murine Skin" 그리고 "Cell Regulation by Oxidants and Antioxidants" 연구를 통해 "Biological system에서의 산화제와 항산화제 구명, 그리고 이들의 신호전달 조절, gene expression 및 세포기능제어에 관한 연구"를 수행하고 있다. 또한 미국의 NIH, 대학 및 제약회사 등에서 비스테로이드성 항염증제, 허혈, 뇌질환 치료제, 항암제, 피부보호제, 안구보호제 등 세포의 산화적피해에 의해 야기되는 각종 질병치료제 개발을 목적으로 활발히 진행되고 있다. 국내의 연구소 및 대학 등에서도 염증치료제, 뇌세포보호제, 피부보호제, 화장품 및 식품첨가물로 이용하기 위한 항산화제 개발을 목적으로 free radical scavenger, 지질과산화 억제물질 탐색연구가 수행되고 있다. 또한 활성산소와 과산화물은 식품의 산패, 동식물의 각종 산화적 스트레스 및 발효공정에서의 산화적 스트레스에도 관여되어 있으므로[44, 45] 항산화제는 의약산업 뿐만 아니라 농업, 식품공업, 발효산업 등의 다방면에서 이용될 수 있다.

### 항산화활성 평가법

항산화활성 측정법은 대상으로 하는 항산화물질에 따라 다르다. 라디칼소거물질의 경우 free radical을 직접 소거하는 활성을 측정하는 것으로서 ESR(electrospin resonance)과 같이 라디칼을 직접 관측할 수 있는 기기를 사용할 수도 있으나 이는 물질탐색에 적용하기는 어렵다. 따라서 간접적인 방법으로서

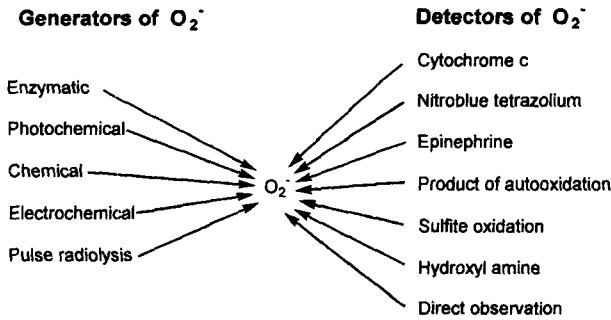


그림 4. Superoxide radical 소거활성 측정계의 구성.

라디칼과 반응하여 그 성질이 변하는 라디칼 detector를 이용하는 방법이 주를 이룬다. 이와 같은 측정 방법은 그림 4의 superoxide radical 소거활성 측정계의 예에서 보는 바와 같이 라디칼 발생계와 라디칼 detector로 이루어진다. 발생계로는 안정한 라디칼을 직접 첨가하거나 라디칼 발생 효소반응 또는 화학반응을 이용한다. 라디칼 detector들은 라디칼과의 반응에 의하여 광흡수도 변화 등을 나타내는 물질들이 주로 이용되며, 항산화활성은 시료에 의하여 라디칼이 소거되어 detector의 변화가 감소되는 정도로부터 산출한다[46-48]. 최근에는 라디칼의 독성을 이용하여 생물학적 방법으로 항산화활성을 평가하는 방법도 많이 이용되고 있다[49]. 한편 지질과산화 억제물질과 같은 항산화물질 검색계는 과산화반응의 initiator와 지질원 그리고 과산화물 detector로 구성되며, initiator로는 산화제, 라디칼 발생계 등이 이용되며, 지질원으로는 생체막 성분, microsome, 뇌 homogenate 또는 arachidonic acid, linoleic acid와 같은 지방산 등을 사용한다. Detector로는 지질과산화물과 반응하는 thiobarbituric acid(TBA) 등이 가장 널리 이용되고 있으며 항산화활성은 시료에 의한 지질과산화물 생성 감소 정도를 detector의 변화 감소 정도로부터 평가한다[50]. 그러나 이와 같은 항산화활성 평가법은 천연물로부터 항산화제의 탐색을 위한 *in vitro* 방법이며, 항산화제의 약리학적 활성을 평가하기 위해서는 질병모델계에서의 활성평가법을 도입하여야 할 것이다.

### 천연 항산화제의 탐색

항산화제는 식품공업, 발효공업 및 의약산업 분야, 농업 분야 등 다방면의 분야에서 이용될 수 있기 때문에 국가 경제 산업적 측면에서 매우 큰 파급효과를 기대할 수 있다. 특히 지금까지 알려진 항산화제가 약한 활성, 독성 및 사용상의 한계로 인하여 의약활성물질로 사용하는 데 있어서 많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 천연으로부터 보다 안전하고 강한 활성을 지닌 신규 천연 항산화제의 개발이 요구된다.

국내에서의 항산화제 개발 연구는 대부분 식품소재를 재료

로 하여 항산화활성의 유무 및 활성의 강도를 측정하고 식품의 보호제로서의 항산화제의 이용에 국한되어 왔으며, 천연으로부터 항산화제를 탐색 개발하는 연구는 1992년 G7 생리활성 선도물질 탐색연구가 시작되면서 생명공학연구소 등에서 미생물 대사산물 등 다양한 천연자원으로부터 신규 항산화물질을 탐색하는 연구가 본격적으로 시작되었다. 그 결과 지질과산화 억제활성, 뇌신경세포 보호활성을 갖는 다수의 신규 항산화제를 개발하는 등 상당한 연구기술과 결과를 축적하고 있다. 현재 항염증제, 뇌신경세포 보호제, 피부노화 방지제 및 식품첨가물의 개발을 목적으로 제약회사 등의 기업과 대학 및 연구소등에서 연구를 수행 중이다.

천연항산화제 탐색을 위한 재료로는 미생물 대사산물을 비롯하여 버섯류, 조류 등의 해양생물, 식물, 동물, 식품 가수분해산물 등 매우 다양하며 발견되는 항산화물질의 종류 또한 대상이 되는 천연물의 종류에 따라 다양하다. 일반적으로 conjugated double bond, phenol 구조, -SH기를 갖는 화합물, alkaloids, 유기산 등은 항산화 활성을 갖는 것으로 알려져 있다.

생명공학연구소의 유 등은 방선균 대사산물로부터 thiazine계의 gerithiazine, benzamide계의 benzastatins A~G, phenazine계의 phenazostatins A, B, 담자균류로부터 polyozellin, agrocyanin, butulinans A, B, 식물로부터 gericudrinines A~E, davidianones A~F 등 다수의 신규 항산화활성 물질을 창출하였다(그림 5)[51-59]. 이들 신규 항산화제는 1 µg/ml 이하의 낮은 농도에서도 강한 쥐 간 microsome의 지질과산화 억제활성 및 free radical 소거활성과 뇌신경세포계 하이브리도마인 N18-RE-105 세포를 glutamate 독성으로부터 보호하는 작용도 나타내는 등, 대표적인 항산화제인 vitamin E 보다 강한 활성을 나타냄으로써 향후 이들의 응용성에 대한 연구가 기대된다.

일본 동경대학의 H. Seto 교수 연구그룹에서는 간 microsome의 지질과산화 억제활성을 갖는 free radical scavenger를 탐색하여 다수의 신규 화합물을 보고하였다(그림 6)[60-71]. 이들 중, 방선균의 균체에서 분리된 carbazole계 화합물인 carquinostatin A와 B는 쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 활성(IC<sub>50</sub> 0.17 µM)과 N18-RE-105 세포를 glutamate 독성으로부터 보호하는 작용을 나타내었으며, neocarazostatin B는 쥐의 뇌 homogenate의 지질과산화 억제활성(IC<sub>50</sub> 0.17 µM)을 보였다. Antiostatins류 화합물은 간 microsome의 지질과산화 억제활성이 vitamin E에 비하여 약 50배나 강하다고 하였다. Benthocyanin류, benthophoenin, phenazoviridin 등의 phenazine계 화합물도 지질과산화 억제활성을 나타내는 항산화제로서 미생물의 균체 또는 배양액으로부터 분리되었다.

한편, 최근 프랑스 보르도지방 남부에 생육하고 있는 프랑스 적송의 수피에서 추출한 수용성 식물성분인 Pycnogenol은 vitamin E의 50배, vitamin C의 20배 이상의 강력한 항산화 활성을 나타내는 물질로서 식품첨가물, 화장품원료 등의 목적

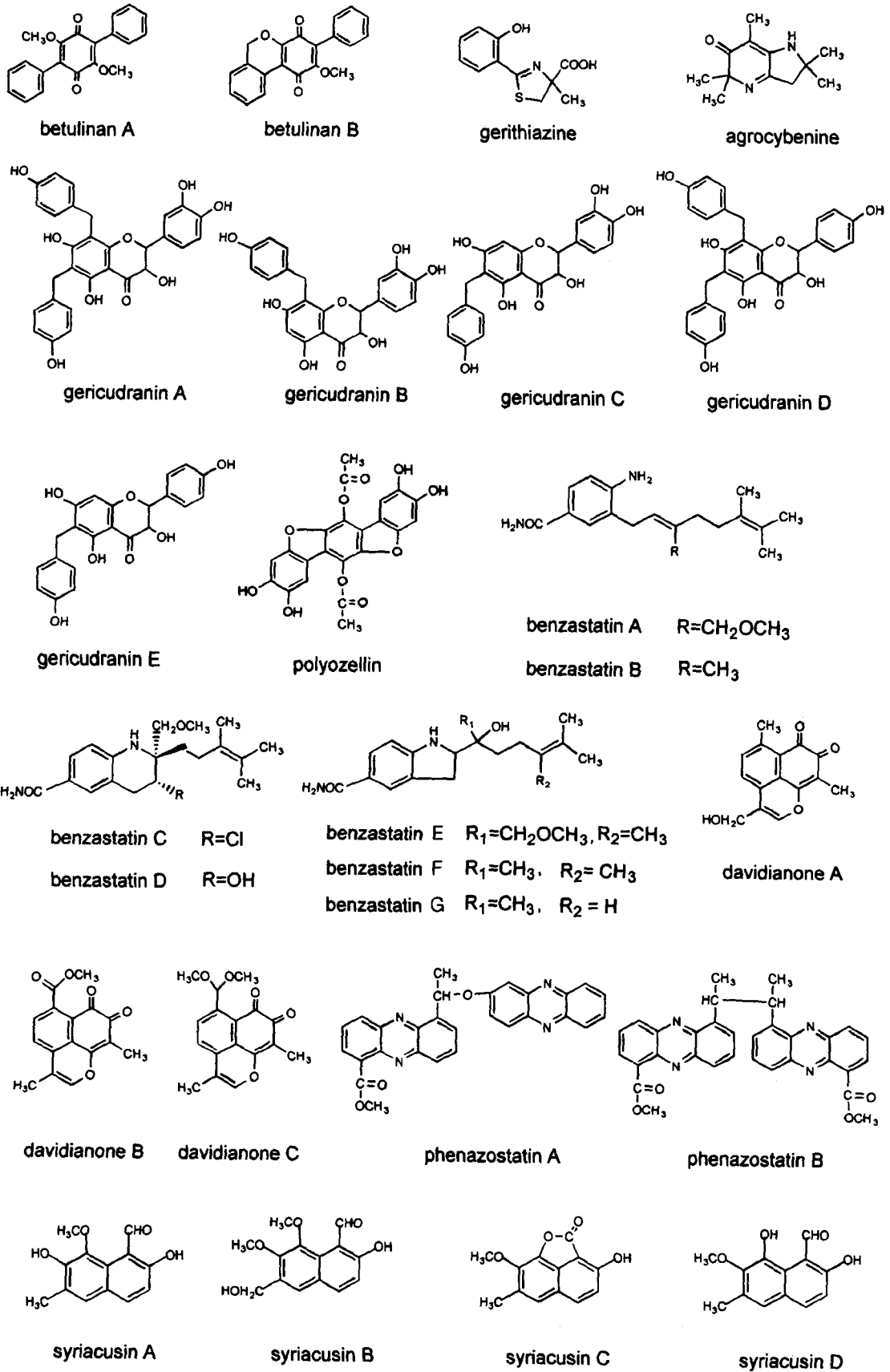


그림 5. 국내에서 탐색된 신규 천연항산화제.



으로 판매되고 있다. 이의 세계 시장은 미국에서 만도 건강식품 시장에서 수년간 3억불의 매우 큰 시장을 형성하고 있으며, 최근 일본에서도 판매를 시작했는데 음료와 화장품원료로 kg 당 40만엔을 호가하고 있는 등 커다란 시장을 형성하고 있다. 펄프 제지 산업의 부산물인 적송의 수피로부터 Pyconogenol이라는 항산화제를 개발함으로써 고부가가치 상품을 창출한 성공적인 예가 되고있다.

## 결 어

산화적 스트레스가 노화를 비롯하여 각종 질환을 일으키는 중요한 원인이 입증됨으로써 free radical 소거활성을 갖는 항산화제의 노화억제 및 질환의 치료제로서 가능성이 크게 부각되고 있다. 그러나 지금까지 천연 및 합성 항산화제가 개발되어 의약품 또는 연구시약으로 사용되고 있으나 독성 및 *in vivo*계에서의 여러 가지 문제점으로 인하여 산화적 스트레스에 의한 노화 및 각종 질병의 치료용 의약품으로서의 사용에 한계를 지니고 있다. 따라서 기존의 항산화제가 갖는 문제점을 해결할 수 있는 새로운 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다.

천연으로부터 항산화제를 탐색 개발하는 국내 연구수준은 근래 들어 다수의 신규 항산화제를 개발하는 등 상당한 기술과 연구결과를 축적하고 있다. 그러나 개발된 항산화제를 응용하기 위한 생물학적 기능 연구 및 질병모델계에서의 효능평가를 위한 모델계 등을 갖추고 있지 못하여 실험실적 방법으로 개발된 항산화제의 실제 응용연구가 이루어지지 못함으로 인해 그 가치가 사장되고 있는 실정이다. 따라서 개발된 항산화제의 고부가가치 창출을 위해서는 항산화제의 생물학적 효능검정기술 및 항산화 작용기작, 항산화제의 세포신호전달 조절기능, 항산화제의 gene expression에 대한 이해 등의 다방면에 걸친 연구가 병행되어야 할 것이다. 또한 항산화제는 어떤 구조를 필요로 하는가? 어떤 functional group이 필요한가에 대한 이해가 새로운 항산화 의약품개발과 디자인에 필수적이라 생각된다.

## 참고문헌

1. Sawyer, D. T. and J. S. Valentine. 1981. How super is superoxide? *Acc. Chem. Res.* **14**: 393.
2. Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**: 1-11.
3. Bisby, R. H. and A. W. Parker. 1993. Radiation-induced free radical reactions, pp. 31-37. In Poli, G., E. Albano and M. U. Dianzani(ed.), Free radicals: From basic science to medicine, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
4. Singh, A. 1989. Chemical and biochemical aspects of activated oxygen: singlet oxygen, superoxide anion, and related species, pp. 17-24. In Miquel, J., A. T. Quintanilha, H. Weber(ed.), Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, Vol. I, CRC Press, Boca Raton, Florida.
5. Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (ed.), 1989. Oxygen is poisonous-an introduction to oxygen toxicity and free radicals. In Free radicals in biology and medicine. 2nd ed., pp. 1-21, Clarendon Press, Oxford.
6. 吉川敏. 1996. 酸素による障害, pp. 10-18. In フリーラジカル入門. 先端醫學社, 東京.
7. Fridovich, I. 1983. Superoxide radical: An endogenous toxicant. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**: 239-257.
8. 大柳善彦, 1989. 放射線・公害, 藥害と活性酸素, pp. 703-731. In SODと活性酸素調節劑, 日本醫學館, 東京.
9. Greenwald, R. A. and W. W. Roy. 1985. Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis and Rheumatism* **23**: 455-463.
10. McBride, T. J., B. D. Preston and L. A. Loeb. 1991. Mutagenic spectrum resulting from DNA damage by oxygen radicals. *Biochemistry* **30**: 207-213.
11. Adelson, R., R. L. Saul and B. N. Ames. 1988. Oxidative damage to DNA: Relation to species metabolic and life span. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 2706-2708.
12. Emerit, J. and J. Lippman. 1989. Free radicals and Lipid peroxidation in cell pathology, pp. 177-185. In Miquel, J., A. T. Quintanilha, H. Weber(ed.), Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, Vol. I, CRC Press, Boca Raton, Florida.
13. Cheeseman, M. 1993. Lipid peroxidation. An overview, pp. 66-77. In Poli, G., E. Albano and M. U. Dianzani(ed.), Free radicals: From basic science to medicine, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
14. 大柳善彦, 1989. 活性酸素での核酸・蛋白變化, pp. 669-700. In SODと活性酸素調節劑, 日本醫學館, 東京.
15. Oliver, C. N. 1987. Inactivation of enzymes and oxidative modification of proteins by stimulate neutrophils. *Arch. Biochem. Biophys.* **253**: 62-72.
16. Orrenius, S. 1993. Mechanisms of oxidative cell damage, pp. 47-64. In Poli, G., E. Albano and M. U. Dianzani(ed.), Free radicals: From basic science to medicine, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
17. Proctor, P. H. 1992. Free radicals and human disease, pp. 17-24. In Miquel, J., A. T. Quintanilha, H. Weber(ed.), Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, Vol. I, CRC Press, Boca Raton, Florida.
18. Harman, D. 1986. Free radical theory of aging: Role of free radicals in the origination and evolution of life, aging, and disease processes, pp. 3-49. In Johnson, Jr., J. E. R. Walford, D. Harmon and J. Miquel(ed.), Free radicals, aging and degenerative disease, Alan R. Liss, New York.
19. Cross, E. E., B. Halliwell B., E. T. Borish, W. A. Pryor, B. N. Ames, R. L. Saul and J. M. McCord. 1987. Oxygen rad-

- icals and human disease (clinical conference). *Ann. Intern. Med.* **107**: 526-545.
20. Halliwell, B. 1987. Oxidant and human disease: Some new concepts. *FASEB J.* **1**: 358-364.
  21. Halliwell, B and J. R. S. Houlst. 1988. Oxidants, inflammatory and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.* **2**: 2867-2873.
  22. Johnson, K. J., A. Rehan and P. A. Ward. 1988. The role of oxygen radicals in kidney disease. In Halliwell, B.(ed.), Proceedings of the Upjohn Symposium on oxidants and Disease. Allen Press, Kansas.
  23. Kedziora, J. and G. Bartosz. 1988. Down's syndrome: a pathology involving the lack of balance of reactive oxygen species. *Free Radical Biol. Med.* **4**: 317-330.
  24. Marnett, L. J. 1987. Peroxyl free radicals: potential mediators of tumor initiation and promotion. *Carcinogenesis* **8**: 1365-1373.
  25. Martin, J. P. and B. Batkoff. 1987. Homogentisic acid autooxidation and oxygen radical generation: implication for the etiology of alkaptonuric arthritis. *Free Radical Biol. Med.* **3**: 241-250.
  26. McCord, J. M. 1987. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed. Proc.* **46**: 2402-2406.
  27. Link, E. M. 1993. Inflammation and a mechanism of hydrogen peroxide cytotoxicity, pp. 113-122. In Poli, G.,E., Albano and M. U. Dianzani(ed.), Free radicals: From basic science to medicine, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
  28. Patt, J., A. H. Harken, L. K. Burton, T. C. Rodell, D. Piermattei, W. J. Schorr, N. B. Parker, E. M. Berger, I. R. Horesh, L. S. Terada, S. L. Linas, J. C. Cheronis and J. E. Repine. 1988. Xanthine oxidase-derived hydrogen peroxide contributes to ischemia reperfusion-induced edema in gerbil brains. *J. Clin. Invest.* **81**: 1556-1562.
  29. 八木國夫, 大石誠子, 大川博. 1981. 過酸化脂質と疾患, pp. 20-32, 醫學書院, 東京.
  30. Mavelli, I., et al. 1982. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in oxidative hemolysis. A study of Fanconi's anaemia erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **106**: 286-290.
  31. Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (ed.), 1989. Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of toxicity. In Free radicals in biology and medicine. 2nd ed., pp. 86-187. Clarendon Press, Oxford.
  32. Bendich, A., L. J. Machlin, O. Scadurra, G. W. Burton and D. D. M. Wayner. 1986. The antioxidant role of vitamin C. *Adv. Free Radical Biol. Med.* **2**: 419-444.
  33. Wayner, D. D. M., G. W. Burton, K. V. Ingold, L. R. C. Barclay, S. J. Locke. 1987. The relative contribution of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochem. Biophys. Acta* **924**: 408-419.
  34. 二本鋭雄. 1988. ビタミンEの抗酸化作用. *ビタミン*, **62**: 601-619.
  35. Frei, B., R. Stocker and B. N. Ames. 1988. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**: 9748-9752.
  36. 大柳善彦, 1989. 스카ベンジャー-と抗酸化劑, pp. 223-290. In SODと活性酸素調節劑, 日本醫學館, 東京.
  37. Halliwell, B. and J. M. C. Gutteridge (ed.). 1989. lipid peroxidation: a radical chain reaction, pp. 188-276. In Free radicals in biology and medicine. 2nd ed., Clarendon Press, Oxford.
  38. Pecker, L., (ed.). 1994. Antioxidant identification, characterization, and assay. In Meth. Enzymol. Vol. 234, Oxygen radicals in biological systems, pp. 266-642. Academic Press, San Diego.
  39. Miquel, J., A. T. Quintanilha, H. Weber(ed.). 1992. Antioxidants and free radical scavengers: biological mechanisms and clinical application. In Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine, Vol. II, CRC Press, Boca Raton, Florida.
  40. McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244**: 6049-6055.
  41. 大柳善彦. 1989. 合成스카ベンジャー-と抗酸化劑, pp. 260-290. In SODと活性酸素調節劑, 日本醫學館, 東京.
  42. 中村哲也, 阿部皓一, 堀江透, 井上正康. 1992. 低分子抗酸化劑-過去, 現在, 未來, pp. 699-715. In 井上正康(編著). 活性酸素と病態: 疾患モデルからベッドサイドへ. 學會出版センター, 東京.
  43. 長野哲雄. 1992. Superoxide dismutase mimicsの分子設計, pp. 717-728. In 井上正康(編著). 活性酸素と病態: 疾患モデルからベッドサイドへ. 學會出版センター, 東京.
  44. Asada, K. and M. Takahashi. 1987. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, pp. 227-287. In Kyle, D. J., C. B. Osmond and C. J. Arntzen(ed.), Photoinhibition, Elsevier, Oxford.
  45. Sies, H.(ed.). 1985. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. Academic Press, NewYork.
  46. Pecker, L., (ed.). 1990. Assay of enzymes or substances involved in formation or removal of oxygen radicals and derived products. In Meth. Enzymol. Vol. 186, Oxygen radicals in biological systems. Part B. Oxygen radicals and antioxidants, pp. 207-367. Academic Press, San Diego.
  47. 淺田浩二, 中野稔, 沼カツ子 編, 1992. 活性酸素測定マニュアル, 講談社. 東京.
  48. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
  49. Morimitsu Y. and A. Hirota. 1996. Ansamycin antibiotics as free radical scavengers isolated from *Streptomyces* by using the bactericidal action of the hydroxyl radical. *Biosci. Biotech. Biochem.* **60**: 1507-1509.
  50. Ohakawa, H., N. Ohishi and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction.



- Anal. Biochem.* **95**: 351–358.
51. Lee, I. K., C. J. Kim, K. S. Song, H. M. Kim and I. D. Yoo. 1995. Two more benzylated dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *J. Natural Products* **58**: 1614–1617.
  52. Lee, I. K., C. J. Kim, K. S. Song and I. D. Yoo. 1996. Cytotoxic benzyl dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *Phytochemistry* **41**: 213–216.
  53. Kim, W. G., J. P. Kim, C. J. Kim, K. H. Lee and I. D. Yoo. 1996. Benzastatin A, B, C and D: New free radical scavengers from *Streptomyces nitrosforeus* 30643. (I) Taxonomy, fermentation, isolation, physico-chemical properties and biological properties. *J. Antibiotics* **49**: 20–25.
  54. Kim, W. G., J. P. Kim, and I. D. Yoo. 1996. Benzastatin A, B, C and D: New free radical scavengers from *Streptomyces nitrosforeus* 30643. (II) Structure determination. *J. Antibiotics* **49**: 26–30.
  55. Lee, I. K., B. S. Yun, S. M. Cho, W. G. Kim, J. P. Kim, I. J. Ryoo and I. D. Yoo. 1996. Betulinans A and B, two benzoquinone compounds from *Lenzites betulina*. *J. Natural Products* **59**: 1090–1092.
  56. Kim, J. P. W. G. Kim, H. Koshino, J. Jung and I. D. Yoo. 1996. Sesquiterpene *o*-naphthoquinones from the root bark of *Ulmus davidiana*. *Phytochemistry* **43**: 425–430.
  57. Yun, B. S., I. J. Ryoo, W. G. Kim, J. P. Kim, H. Koshino, H. Seto and I. D. Yoo. 1996. Structures of phenazostatins A and B, Neuronal cell protecting substances of microbial origin. *Tetrahedron Letters*, **37**: 8529–8530.
  58. Koshino H., I. K. Lee, J. P. Kim, W. G. Kim, J. Uzawa and I. D. Yoo. 1996. Agrocycbenine, novel class alkaloid from the Korean mushroom *Agrocybe cylindracea*. *Tetrahedron Letters* **37**: 4549–4550.
  59. Kim, W. G., J. P. Kim, H. Koshino, K. Shin-Ya, H. Seto and I. D. Yoo. 1997. Benzastatin E, F, and G: new indoline alkaloids with neuronal cell protecting activity from *Streptomyces nitrosporeus*. *Tetrahedron* **53**: 4309–4316.
  60. 瀬戸治男, 新家一男. 1993. 微生物の生産する抗酸化性物質, pp. 144–156. In 別府輝彦, 大村智, 瀬戸治男, 山崎真狩 (編執), 細胞機能研究のための低分子プロブ, 共立出版株式会社, 東京.
  61. Shin-ya, K. M. Tanaka, K. Furihata, Y. Hayakawa and H. Seto. 1991. Structure of carquinostatin A, a new neuronal cell protecting substance produced by *Streptomyces exofolius*. *Tetrahedron Letters* **34**: 4943–4944.
  62. Kato, S., K. Shindo, Y. Kataoka, Y. Yamagishi and J. Mochizuki. 1991. Studies on free radical scavenging substances from microorganisms. II. Neocarazistatins A, B and C, novel free radical scavengers. *J. Antibiotics* **44**: 903–907.
  63. Kato, S., K. Shindo, H. Kawai, A. Odagawa, M. Matsuoka and J. Mochizuki. 1993. Pyrrolostatin, a novel lipid peroxidation inhibitor from *Streptomyces chrestomyceticus*.: Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological properties. *J. Antibiotics* **46**: 892–899.
  64. Shin-ya, K., K. Furihata, Y. Teshima, Y. Hayakawa and H. Seto. 1992. Structures of stealthins A and B, new free radical scavengers of microbial origin. *Tetrahedron Letters* **33**: 7025–7028.
  65. Mo, C.-J., K. Shin-ya, K. Furihata, K. Furihata, A. Shimazu, Y. Hayakawa and H. Seto. 1990. Isolation and structural elucidation of antioxidative agents, antiostatins A<sub>1</sub> to A<sub>4</sub> and B<sub>2</sub> to B<sub>5</sub>. *J. Antibiotics* **43**: 1337–1340.
  66. Kato, S., H. Kawai, T. Kawasaki, Y. Toda, T. Urata and H. Hayakawa. 1989. Studies on free radical scavenging substances from microorganisms. I. Carazostatin, a new free radical scavenger produced by *Streptomyces chromofuscus* DC 118. *J. Antibiotics* **42**: 1879–1881.
  67. Shin-ya, K., K. Furihata, Y. Hayakawa and H. Seto. 1991. The structure of benthocyanin A. A new free radical scavenger of microbial origin. *Tetrahedron Letters* **32**: 943–946.
  68. Shin-ya, K., Y. Hayakawa and H. Seto. 1993. Structure of benthophoenin, a new free radical scavenger produced by *Streptomyces prunicolor*. *J. Natural Products* **56**: 1255–1258.
  69. Kato, S., K. Shindo, Y. Yamagishi, M. Matsuoka, H. Kawai and J. Mochizuki. 1993. Phenazoviridin, a novel free radical scavenger from *Streptomyces* sp.: Taxonomy, fermentation, isolation, structure elucidation and biological properties. *J. Antibiotics* **46**: 1485–1493.
  70. Shindo, K. A. Takenaka, T. Noguchi, Y. Hayakawa and H. Seto. 1989. Thiazostatin A and thiazostatin B, new antioxidants produced by *Pseudomonas cepacia*. *J. Antibiotics* **42**: 1526–1529.
  71. Teshima, Y., K. Shin-ya, A. Shimazu, K. Furihata, S. C. Ha, K. Furihata, Y. Hayakawa and H. Seto. 1991. Isolation and structural elucidation of pyridoxatin, a free radical scavenger of microbial origin. *J. Antibiotics* **44**: 685–687.