

녹차추출물에 의한 쥐표피의 효소에 대한 항산화 효과

류병호 · 박춘옥*

경성대학교 식품공학과, *부산여자전문대학 피부미용학과

Antioxidant Effect of Green Tea Extracts on Enzymatic Activities of Hairless Mice Skin Induced by Ultraviolet B Light

Beung-Ho Ryu and Chun-Ok Park*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungsung University

*Department of Skin Beauty, Pusan Women's Junior College

Abstract

This study was carried out to investigate the acute cutaneous enzymatic antioxidant activity of green tea extracts (GTE) on hairless mice skin after a signal exposure to ultraviolet B radiation. GTE has been incorporated at concentration of 5, 25, 50 and 100 µg into hairless mice skin. Under exposure conditions of 1.0 joule/cm², impairment of cutaneous enzymatic activity was observed. Catalase and glutathione reductase were significantly influenced in dose-dependent manner by GTE, however glutathione peroxidase and superoxide dismutase were not affected. To measure inhibition effect of the GTE on lipoxygenase, 50 µg GTE extract was added *in vitro* to arachidonis acid. GTE showed higher inhibition effect on 5-hydroxyicosatetraenoic acid (HETE) and 8-HETE than metalolic products of 12- or 15-HETE. The addition of 5, 25, 50 and 100 µg GTE inhibited the metabolite formation of 5-HETE by 32, 52, 62 and 80%, respectively, and the metabolite formation of 8-HETE by 36, 47, 70 and 84%, respectively.

Key words: antioxidant, ultraviolet B, green tea extracts

서 론

녹차는 *Camellia*속으로 90여종이 있으며 현재 음용되고 있는 녹차는 중국종은 *Camellia Sinensis* var *Sinensis*이고, 맛생종은 *Camellia Sinensis* var *Asamica*이다^(1,2). 최근에는 녹차에 대한 관심이 집중되면서 차의 성분과 그 약리효과에 대한 많은 연구가 활발히 진행되고 있다. 녹차는 다른 식품에 비하여 특징적으로 볼 수 있는 성분은 아미노산으로는 theanine 등이 있으며^(3,7) 또 polyphenol류가 다량 함유되어 있다. Polyphenol류 중에서 항산화 활성이 잘 알려져 있는 카테킨류는 주로 (-)epicatechin(EC), (-)epigallocatechin gallate (EGCG) 및 (-)epicatechin gallate(ECG), (-)epigallocatechin(EGC) 등이다^(8,10). 녹차에 들어있는 polyphenol류는 혈중콜레스테롤을 저하 시키고⁽¹²⁾, 고혈압이나⁽¹³⁾ 동맥경화를 예방하고⁽¹⁴⁾, 과산화지질의 생성을 억

제하여 노화를 지연시키며, 혈청중의 지질농도를 저하시키고, 중성지질의 생성을 억제하여 비만을 방지하고 모세혈관의 저항력을 증진시킨다고 보고되었다^(15,17). 특히 녹차는 동맥경화증, 심장협착증등 심장혈관계의 예방에 효과적이고 녹차 추출액은 위액의 펩신의 분리를 촉진하여 식욕을 증진시키고 체온 조절 효과도 우수하다고 알려져 있다⁽¹⁹⁾. 또한 녹차중의 카테킨류는 항 돌연변이원성이 있으며 이는 polyphenol성분의 -OH기가 발암성을 갖는 불안정한 group과 결합하여 유리기를 없애므로서 발암성 물질을 불활성화시킨다고 보고되었다⁽¹⁸⁾.

자외선(ultraviolet light; UV)은 spectrum에 따라 UV C (190~290 nm), UV B (290~320 nm) 및 UV A (UVA I, 340~400 nm, UVA II, 320~340) 등 3개의 spectrum으로 구분되며 이중 UV B (290~320 nm)는 태양광선의 spectrum중에 포함되어있어 피부의 화상, 번이원, 세포사멸 및 피부암등을 일으키는등 피부에 많은 손상을 일으킨다^(19,24). 특히 인체의 피부는 태양의 자외선에 노출되면 melanoma^(11,20), 피부암^(11,22), 피부노

Corresponding author: Beung-Ho Ryu, Department of Food Science and Biotechnology, Kyungsung University, 110-1 Daeyon-dong, Nam-gu, Pusan 608-736, Korea

화^(21,22) 및 광과민증^(21,23)을 일으킬 염려가 있다. 미국에서는 피부암은 건강을 위협하고 있는 보편화된 암으로 요즈음 여자의 경우 유방암을 제외한 다른 암보다 발병빈도 수가 빠르게 증가되고 있다^(21,22). UV도 피부 손상 및 피부암 발생 원인중의 하나로 유리가 관여하고 있다고 보고되어 있는데 피부가 UV에 노출되면 유리가 생성되고 피부의 항산화계는 유리에 대한 활성이 감소되어 피부중의 단백질, 지질 및 DNA가 유리에 의하여 손상을 입게된다^(24,25). 이러한 결과를 뒷받침하는 몇가지 연구보고에서 피부 및 피부 homogenates에 UV를 조사하면 유리가 생성된다고 보고하였다⁽²⁶⁾. 피부가 태양의 UV에 노출하므로써 생성되는 유리로 인한 손상을 방지하기 위하여 항산화 및 피부 보호제로서 polyphenol 및 flavonoid 화합물이 효과가 있다고 알려져 있다⁽²⁷⁾.

따라서 본 연구는 polyphenol 화합물이 많이 들어 있는 녹차의 추출물로서 쥐의 피부에서의 항산화효소의 항산화억제효과에 대하여 연구한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료의 조제

1번 녹차잎(경남 하동군 하계면에서 재배된 야부기 다종) 12.5 g을 500 mL의 끓는물에 넣고 15분 동안 담근 후 얼음 수욕상에서 상온으로 식힌 후 여과지(Toyo. No. 3)여과 하였다. 여과하고 남아 있는 차 잎을 다시 500 mL의 끓는 물에 재추출한 후 여과한 여과지로 여액을 합하여 실험에 상용하였다. 이 여액은 1.25% 녹차 추출물(Green Tea Water Extracts GTE 1.25 g tea leaves/100 mL water)에 해당된다. 이때 1.25% 녹차 추출물의 건물량은 65°C의 건조기에서 18시간동안 건조 하였을때 mL당 4.6 mg 이었다.

동물

10~12주 동안 사육한 mice (hairless mice, HRS/J mice)를 Jackson Laboratory (Bar Harbor, MA)로 부터 구입하였고 동물의 사료는 Purina 표준사료(Purina Rodent Lab. Chow No. 5001, St Louis, MO)와 수돗물로서 1주일간 사육하였다. 쥐의 사육환경은 22~24°C에서 light cycle이 12시간 간격으로 on/off 되도록 조절하면서 사육하였다.

표피(피부) 적출물의 제조

쥐에게 CO₂를 흡입시켜 질식사킨 다음 쥐 표피를

분리 적출하기 위하여 시료로 사용하였다. 즉 털없는 쥐(hairless mice)의 전체 표피를 몸체로부터 일반적인 방법으로 분리하여 isotonic buffer (130 mM sodium chloride, 5 mM glucose, 1 mM disodium EDTA, 10 mM sodium phosphate, pH 7.0)로서 혈액을 씻어 내었다. 또 표피에 붙어 있는 피하조직과 근막은 tissue paper로 닦아내어 분리하여 제거하고 외피와 표피(epidermis & dermis)만 분리하여 동결 건조시킨후 -18°C에서 보관하여 두고 시료로 사용하였다^(28,29).

표피(피부)의 UV B의 조사

램프(Oriel 100W Xe lamp, Oriel corporation, stratford, CT)를 사용하여 표피에 UV B 를 조사(irradiation)하였다. 표피(피부)상에서 50 cm 떨어진 거리에서 조사하였으며 램프에 WG 345 long pass filter 를 부착하여 320 nm보다 적은 파장의 빛이 통과하지 않도록 하였다. 쥐에서 적출한 외피와 표피의 피부 sheet (13.4×23.6 cm) 2개로 나누어 한 군은 일정농도의 녹차추출물을 첨가한 후 UV B를 조사 하였고, 다른 한 군은 대조군으로 사용하였다. UV B를 조사하는 동안 표피(피부) 표면의 온도는 25이하로 조절하였고 표피 조사량은 0~1.5 J/cm²로서 60분 동안 조사하였다. UV B 에너지 출력은 7070 Oriel photodide readout (Oriel Corporation, Stratford, CT)로 장치된 7183 Oriel UV/Vis photodetector 로 측정하였다^(28,30).

시료의 처리

UV B을 조사한 후 표피(피부)를 가위로 잘게 잘라 만든 시료에 차가운(0°C) 등장 완충액(isotonic ice cold buffer) (1:10) (130 mM sodium chloride, 5 mM glucose, 1 mM disodium EDTA, 10 mM sodium phosphate, pH 7.0)을 넣고 Ultra-Turax blender (Tekmar Compony, Cincinnati, OH)로 균질화 시킨 후 테프론 봉(Teflon pestle)으로 다시 한번 균질화 시켰다. 균질화 하는 동안 질소 가스를 주입하여 공기의 접촉을 피하였고, 액체 질소로서 급속 동결시킨 후 시료로 사용하였다⁽³⁰⁾. 동결된 시료는 서서히 해동시킨후 8,000×g에서 원심분리(Eppendorf 원심분리기, Ger tebau, Germany)한 후 상징액을 사용하여 효소(Catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, superoxide dismutase 및 lipoxigenase)의 분석에 사용하였다.

효소의 분석

Catalase의 활성

시료(단백질 35~50 g을 함유하는 상징액)에 5 mM

sodium phosphate (pH 7.0) 10 mM hydrogen peroxide 가 함유된 2.0 mL의 반응 혼합액을 30°C에서 oxygen electrode (Rank Brothers)를 사용하여 측정하였다⁽³¹⁾.

Glutathione peroxidase의 측정

Flohe와 Gunzler⁽³²⁾의 방법에 따라 실험하였다. 즉 반응 혼합액인 100 µL/mL (220~240 µg, protein)에 500 µL의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 0.24U의 glutathione 100 µL을 잘 혼합하여 37°C에서 10분 동안 방치한 후 1.5 mM NADPH 100 µL를 첨가하였다. 이 때 NADPH의 과산화물 비의존형 소비량은 spectrophotometer를 사용하여 340 nm에서 1분 동안 측정하였다. 그 후에 catalase의 활성을 억제하기 위하여 1 mM potassium cyanide 와 1.5 mM 과산화 수소 100 µL을 첨가 하였으며 이 때 의존형 NADPH 농도는 과산화물의 감소량을 3분 동안 측정하여 효소의 활성도 (A)를 나타내었다.

$$A=0.868 (\Delta[NADPH]/[GSH]t) (Vi/Vs)$$

[GSH] : initial level of GSH

t : time

Vi 및 Vs : 반응혼합액 및 시료

Glutathione reductase의 측정

Glutathione reductase 의 효소의 활성측정은 Karni 등⁽³³⁾의 방법에 따라 분석하였다. 효소 반응은 100 µg의 시료(220~240 µg, protein) 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.6), 1 mM EDTA, 1 mM GSSG 및 0.6 mM 5, 5'-dithiobis-2nitrobenzoic acid (DTNB)가 함유된 1.0 mL용액에 1 mM NADPH를 첨가한 후 412 nm에서 측정하였다. Glutathione reductase활성은 glutathione의 환원시 DTNB로부터 2-nitro 3-thiobenzoic acid 생성의 비로 측정하였다.

Superoxide dismutase (SOD)의 측정

Flohe와 Otting의 방법⁽³⁴⁾에 따라 ferricytochrome C의 환원되는 분석에 의하여 측정하였다. 즉 xanthine-xanthine oxidase system으로서 방출하는 흡광도를 측정하였다. 주어진 분석조건에 있어서 cytochrome C 환원 비율을 50%억제하는 SOD의 량을 1 U로서 나타내었다.

표피 lipoyxygenase의 측정

표피 lipoyxygenase 활성도측정은 Kao 등⁽³⁵⁾의 방법에 따라 [¹⁴C]-arachidonic acid로 부터 ¹⁴C-labeled 5, 8-hy-

droxyeicosatetraenoic acid (HETE)의 생성으로서 측정하였다. 쥐의 표피(200~400 µg 단백질 함유)에 100 µM-HCl (pH 7.2), 2 mM CaCl₂ 및 녹차추출물을 혼합한 반응액 150 mL에 [¹⁴C] arachidonic acid 150 cpi, 3 nmol을 가한후 37°C에서 30분간 방치하였다. 방치후 0.2 M HCl 10 µL를 첨가하여 반응을 중지시켰다. 이 혼합 반응액의 대사산물은 0.5 mL ethylacetate로서 3회 추출하여 HPLC로 측정하였다. HPLC의 분석조건은 Resolvex Sil (4.6×250 mm, Fisher Scientific Co.) 용출액은 acetic acid : isopropanol : n-hexane (0.1 : 4 : 96 v/v/v) 유속은 1.0 mL/min이었고, 표준 HETEs는 Sigma Co. 제품을 사용하였다.

Thiobarbituric acid reacting substances (TBARS)의 측정

50 µg 단백질이 함유된 반응 혼합액 0.5 mL에 20% TCA 1.5 mL를 가한 다음 여기에 0.05 M NaOH에 0.67% TBA 1.5 mL을 넣어 섞은 후 그 반응 혼합액을 90°C 수욕상에서 45분간 가열하였다. 시료를 10분간 원심분리(2,000×g)한 후 상징액의 형광을 Perkin-Elmer fluorescence spectrophotometer (Model 650-10S)를 사용하여 510 및 553 nm에서 측정하였다. 시료 중의 TBARS의 수는 malonaldehyde(MDA)로서 만들어진 MDA의 표준곡선으로부터 MDA의 nmole로서 나타내었다⁽³⁶⁾.

단백질의 정량

LDL의 단백질의 정량은 Lowry 등의 방법⁽³⁷⁾에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

UV spectrum과 표피의 조사량

Fig. 1는 UV B의 노출량에 따른 쥐의 표피의 지질의 광산화를 알아보기 위하여 UV B를 0에서 부터 1.5 Joule/cm²의 범위 내에서 60분간 노출하였을때의 malondialdehyde(MDA)를 조사하였다. 쥐표피의 MDA양은 UV B에 노출하지 않은 대조군은 0.85±0.19 mmol/mg protein이었으나 UV B를 0.25 Joule/cm² 조사하였을 때는 1.04±0.27 mmol/mg protein이었고 0.5 Joule/cm²을 조사하였을 때에는 2.20±0.28 mmol/mg protein로 UV조사량이 증가함에 따라 증가하였다. 그러나 UV B를 1.0 Joule/cm²로 조사하였을 경우 2.5±0.10 mmol/mg protein이었고, 1.25 및 1.5 Joule/cm²로 노출하였을 경우 2.5±0.21 및 2.6±0.13 mmol/mg

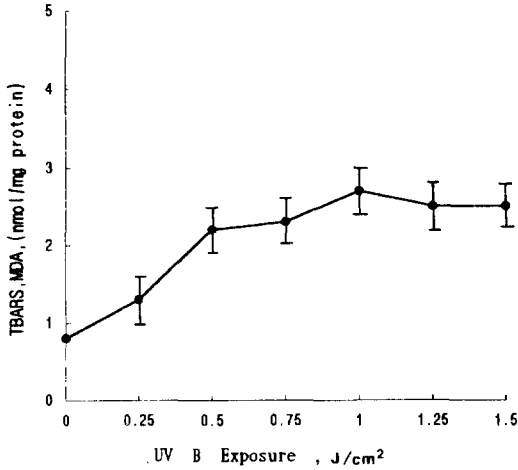


Fig. 1. Increases in epidermal lipid peroxidation of hairless mice after a signal exposure to different intensities of UV B radiation. Values are means±SD for 60 min.

protein으로 1.0 Joule/cm² 이상의 조사시에는 조사량 증가에 따른 TBARS의 값은 큰 차이를 나타내지 않았다. 0.25 Joule/cm²부터 1.5 Joule/cm²범위내에서 UV B를 조사하였을때 TBARS의 값은 1.08 Joule/cm²때 2.60±0.01로 최고치로 대조군에 비하여 증가하였다고 보고하였고, 노출시간은 60분동안 노출하였을때가 TBARS값이 가장 높았다고 하였다⁽²⁷⁾. 본 실험에서도 UV B의 조사량이 1.0, 1.25 및 1.5 Joule/cm²에서 TBARS의 값은 큰 차이를 아볼 수 없었으므로 1.0 Joule/cm²에서 조사하는 것이 가장 적합하다고 사료되었다.

UV B 조사에 의한 효소의 활성

녹차 추출물이 UV B에 조사하였을때 효소의 활성에 미치는 영향에 대하여 검토하였다. Fig. 2, 3, 4 및 5는 catalase, glutathione (GSH) peroxidase, glutathione (GSH) reductase 및 superoxide dismutase의 활성을 대조군과 UV B조사군 및 항산화제로서 녹차추출물을 5, 25, 50 및 100 µg으로 첨가하여 실험한 결과이다. 효소 중 catalase는 대조군이 12.0±2.43 µmol oxygen/mg protein/min이었고, UV B를 조사하였을 때는 8.6±2.01 µmol oxygen/mg protein/min이었고, GTE의 농도를 5, 25, 50 및 100 µg으로 조절하여 첨가하였을때 각각의 효소활성은 8.2±1.86, 9.9±2.03, 11.2±1.77 및 11.6±3.03 µmol oxygen/mg protein/min이었다. Glutathione peroxidase의 대조군은 38.4±1.83 nmole, NADPH/mg protein/min이었으나 UV B 처리구에서는 32.1±2.13

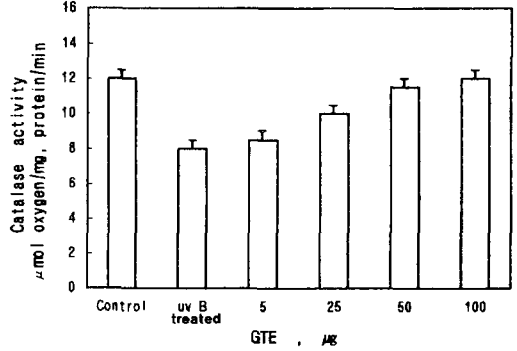


Fig. 2. Effect of GTE on catalase activity in the homogenates of control and UV B treated skin.

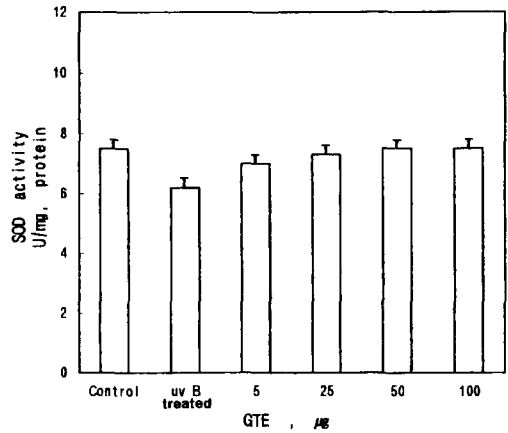


Fig. 3. Effect of GTE on glutathione peroxidase activity in the homogenates of control and UV B treated skin.

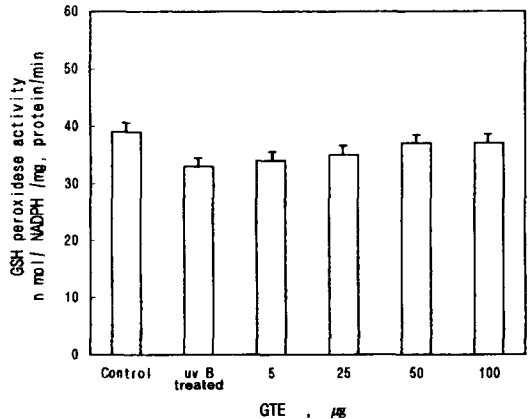


Fig. 4 Effect of GTE on glutathione reductase activity in the homogenates of control and UV B treated skin.

nmole NADPH/mg protein/min로서 대조군의 효소활성에 비하여 다소 감소되었다. Glutathione reductase의 활성은 대조군에서는 26.0±0.82 nmole GSH/mg protein/

min 이었고, UV B 처리구에서는 20.2 ± 0.70 nmole GSH/mg protein/min 이었다. Superoxide dismutase는 대조구에서는 7.3 ± 0.38 U/mg protein 이었으나 UV B 처리구에서는 6.3 ± 0.31 U/mg protein으로 나타났다. Catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase 및 superoxide dismutase의 활성은 UV B를 조사한 실험구가 UV B를 조사하지 않은 대조구에 비하여 전반적으로 활성이 낮았다. 이러한 현상은 쥐 표피의 효소 활성이 UV B를 조사함으로써 효소의 활성이 억제되는 것으로 판단된다.

본 실험에서 나타난 바와 같이 표피부의 효소의 활성은 catalase와 glutathione reductase의 활성은 대조구에 비하여 UV B를 처리한 피부에서 큰 차이가 있었으나, glutathione peroxidase 와 superoxide dismutase의 활성은 대조구와 UV B 처리구간에 큰 차이를 볼 수 없었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 다른 연구자들의 결과와 본 실험 결과를 비교해 보면 쥐의 피부의 catalase, GSH peroxidase, GSH reductase 및 superoxide dismutase등이 거의 비슷한 수치를 나타내고 있으나, 본 연

구의 GSH peroxidase의 활성이 38.4 ± 1.83 nmole NADPH/mg protein/min에 비하여 Wheeler 등⁽³⁸⁾이 보고한 GSH peroxidase의 활성은 80.2 nmole NADPH/mg protein/min로서 약 2배 정도 높게 나타났다. Superoxide dismutase의 활성의 경우, 본 연구의 7.3 ± 0.40 U/mg protein 에 비해 Fuchs 등⁽³⁹⁾의 superoxide dismutase가 4.34 U/mg protein로 약간 높았으나, Miyachi 등⁽⁴⁰⁾의 결과 보다는 다소 낮았다. 피부의 광산화는 BHT, β -carotene, 및 α -tocopherol과 같은 항산화제에 의하여 UV에 의해 유도되는 erythema에 대하여 피부의 항산화 작용으로 보호 받는다⁽²⁷⁾. 이러한 항산화제는 지질 과산화물 분해산물인 malondialdehyde의 생성을 억제하므로써 피부의 산화로부터 보호할 수 있다⁽⁴¹⁾. 따라서 녹차의 열수추출물은 주로 polyphenol 화합물로서 항산화 작용에 의하여 효소의 활성이 영향을 받는 것으로 사료되었다.

표피 lipoygenase 활성에 대한 GTE의 효과

별도로 수행한 표피 lipoygenase 활성에 대한 GTE 효과를 측정된 결과는 Fig. 6에 나타내었다. 쥐의 표피 균질화 시료의 수용성 분획에서 검출된 [¹⁴C] arachidonic acid의 대사산물 HPLC로 분석한 바에 의하면 arachidonic acid 및 arachidonic acid의 대사 산물인 8-hydroxyeicosatetraenoic acid (8-HETE) 및 5-hydroxyeicosatetraenoic acid (5-HETE)의 보유시간은 2.1, 9.1 및 14.8 min이었고, 12 및 15 HETE의 대조 표준품은 분리할 수 없었다. 그러나 반응 혼합액에 50 μ g GTE를 첨가하여 반응시킨후 HPLC로 분석하여 생성된 5-HETE 및 8-HETE는 현저히 감소하는 것을 볼 수 있었다. GTE는 12 및 15-HETE의 분획보다는 5 및 8-HETE로서 arachidonic acid의 대사를 억제하는것으로 사료된다. 그러므로 GTE가 arachidonic acid의 대사에서 12 및 15-HETE보다는 5 및 8-HETE로 대사가 활발히 이루어지기 때문에 GTE의 함량에 따른 억제효

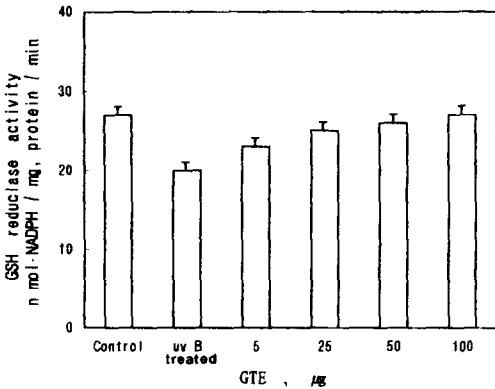


Fig. 5. Effect of GTE on superoxide dismutase in the homogenates of control and UV B treated skin.

Table 1. References value for enzyme activities in skin

sources	catalase ¹⁾	GSH peroxidase ²⁾	GSH reductase ³⁾	superoxide dismutase ⁴⁾	References
Total mouse skin	12.0	38.4	26.0	7.3	This study
Mouse dermis		37.0	14.3		Wheeler ³⁷⁾
Mouse epidermis		80.2	22.5		Wheeler ³⁸⁾
Mouse skin	10.4	39.4	21.4	4.3	Fuchs <i>et al.</i> ³⁹⁾
Total mouse skin				9.5	Miyachi ⁴⁰⁾

¹⁾mol O₂/mg protein/min.
²⁾nmol NADPH/mg protein/min.
³⁾nmol NADH/mg protein/min.
⁴⁾U/mg protein.

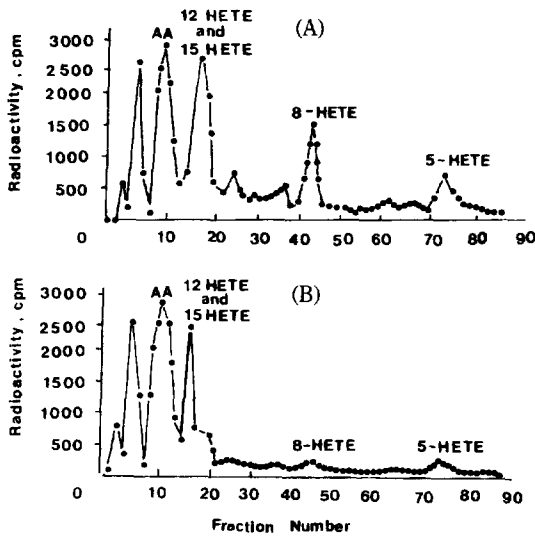


Fig. 6. HPLC profile obtained from [¹⁴C] arachidonic acid metabolism by the soluble fraction of mouse epidermis. (A), standard, (B), sample. [¹⁴C] arachidonic acid (20 μM) was incubated for 30 min at 37°C with the 100,000×g supernatant fraction from homogenates of mouse epidermis (400 μg of protein), in a mixture that contained 100 mM Tris-HCl (pH 7.2) and 2 mM calcium chloride, in the absence or presence of 50 μg GTE. Metabolites were extracted with ethyl acetate and separated by HPLC. Fraction were collected and radioactivity was determined as described in Methods.

과에 대하여 실험하였다. Table 2은 GTE를 5, 25, 50 및 100 μg의 각종 농도별로 반응 혼합액에 첨가하여 arachidonic acid의 대사의 억제효과를 측정하였다. GTE를 5, 25, 50 및 100 μg의 농도에서 arachidonic acid의 대사산물중 5-HETE의 경우에는 각각 32, 52, 62 및 80%정도로 억제하였고, 8-HETE의 경우에는 36, 47, 70 및 84%씩 억제하였다. 이와같은 결과는 25 μg GTE에서도 5-HETE 및 8-HETE의 arachidonic acid의 대사에서 녹차추출물의 용량증가에 따라 높은 억제율을 나타내었다. GTE는 arachidonic acid의 대사산물의 생성을 억제하였으므로 염증 및 종양 촉진을 억제할 것으로 사료된다.

요 약

털없는 쥐피부를 적출하여 ultraviolet B로서 조사한 후 녹차의 열수 추출물이 피부의 효소의 활성화에 대한 항산화 효과를 조사하였다. 녹차의 열수추출물을 5, 25, 50 및 100 μg으로 쥐피부에 첨가한 후 ultraviolet B를 1.0 joule/cm²로 조사한 후 효소활성을 조사한 결

Table 2. Effect of GTE on epidermal lipoxygenase activity

Inhibitor	Inhibition of metabolites formation (%)	
	5-HETE	8-HETE
GTE (5 μg)	32	36
GTE (25 μg)	52	47
GTE (50 μg)	62	70
GTE (100 μg)	80	84

[¹⁴C] arachidonic acid (20 μM) was incubated for 30 min at 37°C with the 100,000×g supernatant fraction from mouse epidermis (200~400 μg/protein), in an incubation mixture that contained 100 mM Tris. HCl, pH 7.4 and 2 mM sodium chloride, in the present of different concentration of GTE. Metabolites were extracted with ethylacetate and separated by HPLC.

과 catalase와 glutathione reductase는 녹차의 열수 추출물의 첨가용량이 증가할수록 영향을 미치는 것으로 나타났으나 glutathione peroxidase와 superoxide dismutase는 영향을 받지 않았다. 한편 lipoxygenase의 활성을 알아보기 위하여 arachidonic acid에 50 μg 녹차의 열수 추출물을 첨가하여 대사를 검토한 결과 대사산물 12 또는 15-hydroxyeicosa- tetraenoic acid보다 5-HETE 및 8-HETE가 억제되었다. 녹차의 열수 추출물을 5, 25, 50 및 100 μg 첨가하였을 때 5-HETE는 각각 32, 52, 62 및 80% 억제되었고 8-HETE는 각각 36, 47, 70 및 84%로 억제됨을 알 수 있었다.

문 헌

1. 大石貞男, 鈴木幸隆, 中川致之: 新茶業全書, 改訂版, 日本静岡縣茶業會議 所編, p.8 (1973)
2. 大石貞男, 畑明美, 林榮一: 健康食お茶, 第一版, 日本農産漁村文化協會, p.12 (1987)
3. 富田勳, 綠茶の有効成分と新機能研究, p.110, 月刊フドケミカル, 1991
4. Wickremasinghe, R. L.: Tea, Advance in Food Research, p.24-229, (1978)
5. Stahl, W. S.: The chemistry of Tea and Tea manufacturing, *Adv. Food Res.*, 11 (1962)
6. Tsujimura, M. and Osawa N.: Amino acid in green tea, Jissen Joshi daigaku kigo, *Chem, Abstr.* p.41, 5,294 (1957)
7. Bokuchava, M. A., Porov V. R. and Sidorov V. S.: Chromatographic fractionation, of free amino acids from fresh and withered tea leaf, *Dokl. Akad. Nauk, SSSR*, 95, 609 (1954)
8. 中川致之: 永い歴史をもつ茶の多様性と化學的な側面, 食品と開發, 17(5), 16 (1982)
9. Roberts, E. and Wood. D.A.: Study of the Polyphenols in tea leaf by paper chromatography, *Biochem. J.*, 49, 414 (1951)
10. Chang, S.S. and Bao, Y.: Process for manufacture for natruual antioxidant products from tea and spent tea. U.S.

- Patent 5,043,100 (1991)
11. Bokuchava, M.A. and Skoleva, N.I.: Study of aromatic aldehydes, *Biokhimiya*, **22**, 3 (1957)
 12. 林榮一, 姜禹植: 痛·高血壓을 豫防하는 茶의 效能, p. 20, 東亞出版社 (1980)
 13. 大森正司, 岡本順子: 日本茶の高血壓·自然發症ラット血壓上昇抑制作用, 日本農藝化學會誌, **61**, 11 (1987)
 14. 大森正司, 岡本順子: 嫌氣處理綠茶の血壓上昇抑制作用, p5, 第39回日本家庭學會 (1987)
 15. 林榮一: 茶の 藥理學的 研究, 靜岡縣茶商工業協同組合聯合會, p.25 (1977)
 16. 清水岑夫: 日本茶の血糖強化作用成分に關する研究, 藥學雜誌, **108**, 964 (1980)
 17. 福生吉裕, 小林陽二: 動脈硬化, **10**(5), 981 (1982)
 18. 堀内孝彦: 綠茶に含まれる タンニン, (-)-epi-gallocatechin gallate による 發痛 プロモーションの抑制, p.6, 第45回 日本ガン學會總會 (1986)
 19. Johnson, E.Y and Lookingbill, D.P.: Sunscreen use and sun exposure: Trends in a white population. *Arch. Dermatol.*, **120**, 727 (1984)
 20. Elwood, J.M., Gallager, R.P. and Davison, J. and Hill, G.B.: Sunburn, suntan and the risk of cutaneous malignant melanoma. The Western Canada Melanoma Study. *Br. J. Cancer*, **51**, 543 (1985)
 21. Epstein, J.H.: Photocarcinogenesis, skin cancer and aging. *J. Am. Acad. dermatol.*, **9**, 487 (1983)
 22. Bolognia, J.L., Berwick, M. and Fine, J.A.: Complete follow-up and evaluation of a skin cancer screening in Connecticut. *J. Am. Acad. Dermatol.*, **23**, 1,098 (1990)
 23. Danno, K and Horio T.: Sunburn cell, factors involved in its formation. *Photochem Photobiol.*, **45**, 683 (1987)
 24. Danno, K., Horio, T., Takigawa, M. and Imamura, S.: Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermal cell injury. *J. Invest. dermatol.*, **83**, 166 (1984)
 25. Robinson, J.K.: Behavior modification obtained by sun protection education coupled with removal of a skin cancer. *Arch. Dermatol.*, **126**, 477 (1990)
 26. Schallreuter, K.U., Pitelkow, M.R. and Wood, J.M: Free radical reaction by Thioredoxin reductase at the surface of normal and human keratiocytes. *J. Invest. Dermatol.*, **87**, 728 (1986)
 27. Machlin, L.J. and Bendich, A.: Free radical tissue damage: Protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J.*, **1**, 441 (1987)
 28. Norrins, A.L.: Free radical formation in the skin following exposure to ultraviolet light, *J. Invest. Dermatol.*, **39**, 445 (1962)
 29. Nishi, J., Ogura, R., Sugiyama, M., Hidaka, T. and Kohno, M.: Involvement of active oxygen in lipid peroxide radical reaction of epidermal homogenate following ultraviolet light exposure. *J. Invest. Dermatol.*, **97**, 115 (1991)
 30. Pathak, M.A. and Stratton, K.: Free radicals in human skin before and after exposure to light. *Arch. Biochem. Biophys.*, **123**, 468 (1968)
 31. Del Rio, L.A., Ortega, M.G., Lopez, A.L. and Gorge, J. L.: A more sensitive modification of the catalase assay with the Clark oxygen electrode. *Methods Enzymol.*, **105**, 409 (1977)
 32. Flohe, L. and Gunzler, W.: Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.*, **105**, 114 (1984)
 33. Karni, L. Moss, S.J. and Telor, E.: Glutathione reductase activity in heterocysts and vegetative cells of cyanobacterium *Nostoc muscorum*. *Arch. Microbiol.*, **140**, 215 (1984)
 34. Flohe, L and Otting, F.: Superoxide dismutase assays, *Methods Enzymol.*, **105**, 93 (1984)
 35. Kato, R. and Nakadate, T., Yamamoto, S. and Sugimura, T.: Inhibition of 12-O-tetradecanoylphorbol -13-acetate-induced tumor promotion and ornithine decarboxylase activity by quercetin : possible involvement of lipoxigenase inhibition. *Carcinogenesis* (Lond), **4**, 1301 (1983)
 36. Yaki, K.: A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma, *Biochem. Med.*, **15**, 212 (1976)
 37. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin reagent, *J. Biol. Chem.*, **193**, 265 (1951)
 38. Wheeler, L.A., Aswad, M.J. and Lowe, N.J.: Depletion of cutaneous glutathione and the induction of cutaneous inflammation by 8-methoxypsoralen plus UV A light. *J. Invest. Dermatol.*, **87**, 658 (1986)
 39. Fuchs, J., Huflejt, M.E., Rothfuss, L.M., Wilson, P.S., Carcoamo, G., and Packer, L.: Acute effects of near ultraviolet and visible light on the cutaneous antioxidant defense system, *Phytochem & Photobiol.*, **50**, 739 (1989)
 40. Miyachi, Y. Imamura, S. and Niwa, Y.: Decreased skin superoxide dismutase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment. *J. Invest. Dermatol.*, **89**, 111 (1987)
 41. Pereira, O., Smith, J.R. and Packer, L.: Photosensitization of human diploid cell cultures by intracellular flavins and protection by antioxidants, *Photochem. Photophysiol.*, **24**, 237 (1976)

(1996년 9월 18일 접수)