

## 활성산소에 의해 유도된 흰쥐 뇌조직의 지질산화에 대한 식물체 추출물의 효과

김석중\* · 한대석<sup>1</sup>

대구가톨릭대학교 식품공학과, <sup>1</sup>한국식품연구원 식품자원이용연구본부

## Effect of Plants Extracts on Lipid Peroxidation of Rat Brain Tissue Induced by Reactive Oxygen Species

Seok Joong Kim\* and Daeseok Han<sup>1</sup>

Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu  
Food Resources Utilization Division, Korea Food Research Institute

Abilities of various edible plants and natural antioxidants to protect brain against oxidative damages were evaluated using brain homogenate of perfused Sprague-Dawley rat. Oxidative damage, expressed as lipid peroxidation (LPO), indicating total quantity of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenal, increased from 4.1 to 6.9 nmol/mg protein by treatment of 2.5  $\mu$ M ferrous sulfate and 7.5 mM hydrogen peroxide as source of reactive oxygen species (ROS) on brain homogenate for 10 min at 37°C. Mallow (88%) in leafy vegetables, small potato (93%) in root vegetables, green red pepper (76%) in fruit vegetables, and avocado (96%) in fruits showed highest LPO inhibition capacities. Ability of mushrooms decreased in order of nameko, shiitake, pine mushroom, oyster mushroom, and new type pine mushroom. Among natural antioxidants tested, (+)catechin (91%), (-)epigallocatechin gallate (85%), (-)epicatechin gallate (83%), and kaempferol (83%) showed high LPO inhibition capacities.

**Key words:** reactive oxygen species, brain, lipid peroxidation, plant, antioxidant

### 서 론

생체는 물질의 대사와 에너지 생산을 위하여 필수적으로 산소가 이용되고 있으며 정상적으로는 물과 이산화탄소로 배출된다. 그러나 이 중 약 4% 가량은 완전히 환원되지 못하여 반응성이 강하고 유해한 활성산소가 된다. 다행히도 생체는 이들에 대한 방어체계를 지니고 있으며 이 체계에 의해 활성산소는 대부분 제거된다(1). 그러나 각종 환경적 요인, 독성물질, 노화, 감염 등에 의해 방어체계가 약화되는 경우에 제거되지 않은 활성산소는 생체의 각 성분과 빠르게 반응하여 산화시킴으로써 정상적인 체내대사를 저해하여 각종 질병과 노화 등을 촉진하게 된다(2). 특히, 다른 장기에 비해서 뇌는 대사를 위한 산소 이용률이 높고 과산화지질의 함량도 높은 반면에 활성산소에 대한 산화방지 효소계나 저분자의 산화방지제가 타 조직에 비해 상대적으로 적은 관계로 유해활성산소나 라디칼에 의한 산화적 손상에 대하여 매우 취약한 부위인데, Alzheimer 증후군, Parkinson 질병, Down 증후군, 종양, 혈관성 치매 등 노

화에 따른 퇴행성 뇌질환 및 뇌기능 약화는 이들 물질과 관련이 큰 것으로 알려져 있다(3,4).

한편, 최근에는 이와 같은 유해 활성산소나 라디칼을 제거함으로써 질병을 치료하려는 시도가 활발해지고 있으며 이와 관련하여 산화방지 효능이 있는 다양한 소재들이 주목받고 있다(5-8). 특히 합성소재들이 여전히 안전성 문제로 사용이 제한되고 있는 실정으므로 생체 기원의 천연물에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다. 그리고 뇌조직의 경우 일단 손상이 되면 기능 회복이 어려우므로 최근에는 치료보다는 예방 측면에 관심이 모아지고 있어서 일상적으로 섭취하는 식품소재의 활용에 주목하고 있다(9,10). 그러나 아직까지는 뇌의 기능과 식품소재 또는 식이와의 관계에 대해서는 연구가 매우 미미한 수준이다.

이에 본 연구에서는 일상적으로 섭취하고 있는 식품소재 중 식물체와 천연산화방지제를 대상으로 뇌조직의 산화적 손상을 방지할 수 있는 효능을 평가함으로써 뇌의 기능을 보호할 수 있는 식품소재의 발굴을 시도하였다.

### 재료 및 방법

#### 재료 및 시약

일반 슈퍼마켓에서 구입한 무, 배추, 상추 등의 채소류와 사과 등의 과일류, 그리고 버섯류 등을 수세 후 채로 썰어서 동

\*Corresponding author: Seok Joong Kim, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Hayang, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-702, Korea  
Tel: 82-53-850-3218  
Fax: 82-53-850-3218  
E-mail: sjkim@cu.ac.kr

결 건조한 다음, 분쇄기(Samsung CR-481W, Korea)로 분쇄한 후 실험 전까지 4°C 데시케이터에서 보관하였다. 천연산화방지제는 Sigma-Aldrich사(Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였으며 기타 시약들은 분석용 등급을 사용하였다.

**흰쥐로부터 뇌 homogenate의 조제**

무게 200-300g의 Sprague-Dawley계열 흰쥐 50마리를 ether로 마취시킨 다음 4°C의 0.85% 생리식염수 용액을 심장에 공급하면서 perfusion시켜 뇌에 존재하는 혈액을 제거한 후에 분리한 뇌조직을 실험 전까지 -80°C에서 보관하였다. 이 뇌조직 1g에 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 10 mL를 첨가한 후 얼음 속에서 homogenizer로 4분간 균질화시켜 뇌 homogenate를 조제하였다(11).

**뇌 homogenate의 산화유도 및 지질산화도 분석**

뇌 homogenate 0.5 mL에 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 1 mL, 25 μM FeSO<sub>4</sub> 0.2 mL, 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3 mL를 첨가한 후 37°C에서 1시간 반응시켜 뇌의 산화를 유도하였다(12). 산화가 유도된 뇌 homogenate는 10,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 취하여 지질산화의 분석에 이용하였다.

상기한 상등액의 지질산화도는 다음과 같은 조건에서 분석하였다(13). 즉, 각 시험관에 acetonitrile에 용해시킨 10.3 mM의 N-methyl-2-phenylindole 용액과 methanol이 3:1(v/v)로 구성된 혼합물 650 μL, 지질산화도 분석을 위한 상등액 200 μL를 첨가하고 3-4초간 교반한 후 15.4 M의 methanesulfonic acid 150 μL를 가한 다음 재교반하였다. 각 시험관을 cork cap으로 막은 후 45°C의 shaking water bath에서 40분간 반응시킨 다음 꺼내 얼음 속에서 2분간 냉각시켜 586 nm에서 흡광도의 변화를 조사하였다. 지질산화의 분석에서 N-methyl-2-phenylindole과 반응하여 발색하는 물질은 지질산화의 산물인 malondialdehyde (MDA)와 4-hydroxyalkenal(4-HDA)로서 이들의 함량은 지질산화의 지표가 된다. MDA와 4-HDA의 함량에 대한 표준물질로 10 mM의 1,1,3,3-tetramethoxypropane을 사용하였으며 손상을 받은 뇌 homogenate의 지질산화도는 nmol(MDA+4-HDA)/mg protein으로 나타내었다.

얻어진 상등액의 단백질함량 분석(14)을 위해서는 상등액 8 μL에 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4) 792 μL를 첨가하여 희석시킨 후 Bradford reagent(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 200 μL를 가하여 교반시킨 다음 595 nm에서의 흡광도 변화를 조사하였다. 단백질 함량에 대한 표준물질로서 bovine serum albumin을 사용하였다.

**식물체 추출물의 산화방지 효능 분석**

동결건조 후 분쇄하여 얻은 식물체 분말에 10배 분량의 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4)을 첨가하여 상온에서 2시간 동안 추출한 다음 10,000×g에서 20 분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 이 상등액 0.1 mL를 상기 뇌 지질산화유도를 위한 반응혼합물에서 완충용액 0.1 mL를 대신해 첨가한 다음 지질 산화를 유도하였다. 이 때 식물체의 첨가 없이 FeSO<sub>4</sub>와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 지질산화가 유도된 뇌 homogenate가 대조구로 이용되었다. 그리고 아래의 식을 이용하여 각 식물체 추출물이 유해 활성산소에 의해 유도되는 뇌 homogenate의 지질산화를 억제하는 효과를 비교하였다.

$$\text{산화억제효능 Inhibition(\%)} = (C_{ROS} - P_{ROS}) \times 100 / C_{ROS}$$

여기서 C<sub>ROS</sub>는 뇌 homogenate가 활성산소에 의해 손상을 받았을 때의 지질산화도이고 P<sub>ROS</sub>는 식물체 추출물을 첨가했을 때 뇌 homogenate의 지질산화도이다.

**천연 산화방지제의 효능 평가**

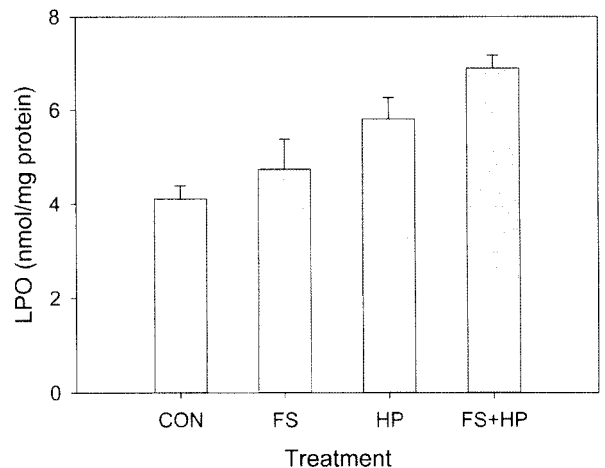
천연 산화방지제 32종 중 수용성시료의 경우 1 mM 농도로 50 mM Tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에 녹인 후 1 mL를 뇌 homogenate 0.5 mL, 25 μM FeSO<sub>4</sub> 0.2 mL, 50 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.3 mL 반응계에 첨가한 다음 37°C에서 1시간 동안 배양시켰다. 완충용액에 잘 녹지 않는 산화방지제의 경우에는 2 mM 농도로 ethanol에 미리 녹인 후 0.1 mL를 취해 반응계에 첨가하였다. 이 반응액을 식물체 추출물의 효능평가에서와 마찬가지로 원심분리하여 상등액을 얻은 후 지질산화도를 분석하여 각 산화방지제의 지질산화 억제효능을 비교하였다.

한편, 모든 실험은 각 2회씩 수행하였고 각 실험에서의 지질산화 및 단백질 분석은 3회 반복하였다.

**결과 및 고찰**

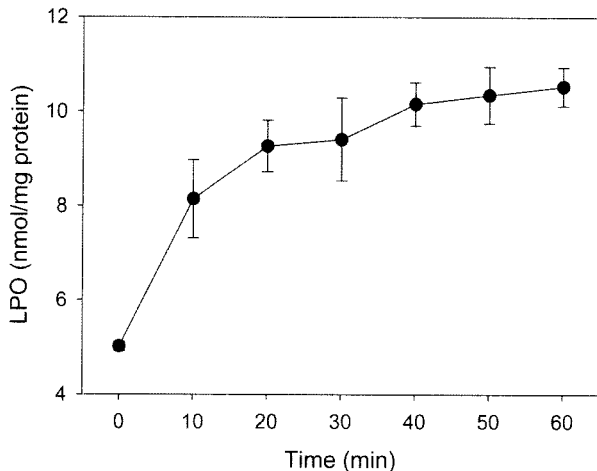
**뇌 homogenate 산화의 유도**

본 실험에서는 유해활성산소에 의한 뇌의 산화적 손상지표로서 지질성분의 산화도를 분석하였는데, 이는 뇌가 다른 장기에 비하여 특히 불포화지방의 함량이 높은 관계로 산화적 손상의 변화를 조사하기가 유리하고, 지질성분의 산화가 세포막의 손상, 기타 단백질(15) 및 DNA 손상(16)과도 관계가 깊어 이를 통한 각종 질환의 발생이 발생한다고 알려져 있기에 지질산화를 손상의 지표로 사용하였다. 또한 뇌 homogenate의 산화유도 및 산화억제 효능 분석에 영향을 줄 수 있는 혈액 중의 각종 산화방지 효소계나 산화방지 성분, 또는 산화촉진 성분들의 작용을 제거하기 위하여, 흰쥐를 마취 후 심장좌심실로부터 생리식염수를 이용한 perfusion을 통하여 혈액을 제거시킨



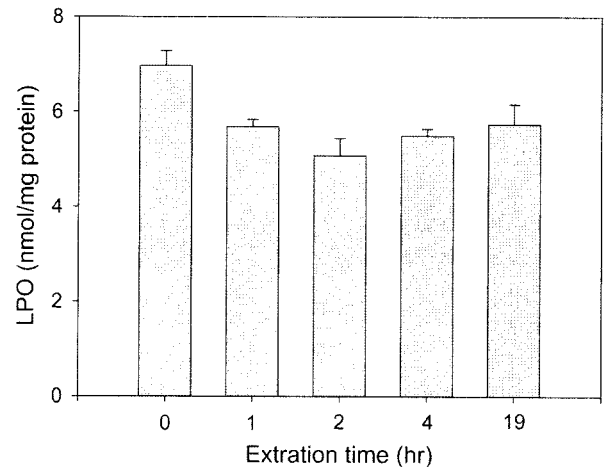
**Fig. 1. Induction of lipid peroxidation of brain homogenate by ferrous sulfate, hydrogen peroxide or its co-supplement.**

FS and HP represent the treatments of brain homogenate by 2.5 μM ferrous sulfate and 7.5 mM hydrogen peroxide, respectively, and FS+HP is for their co-supplement. CON is for control without ferrous sulfate or hydrogen peroxide.



**Fig. 2. Change in lipid peroxidation of brain homogenate induced by ferrous sulfate and hydrogen peroxide with incubation time at 37°C.**

The concentration of ferrous sulfate and hydrogen peroxide was the same as in Fig. 1.



**Fig. 3. Change of inhibitory effect of garlic extracts on lipid peroxidation of brain homogenate induced by ferrous sulfate and hydrogen peroxide with extraction time.**

The concentration of ferrous sulfate and hydrogen peroxide was the same as in Fig. 1.

다음 뇌조직을 취하여 homogenate를 조제하였다.

한편, 지질산화를 유도하기 위해,  $\text{FeSO}_4$ 와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 예비실험 결과 선정된 2.5  $\mu\text{M}$ 과 7.5 mM 농도로 첨가하였는데, Fig. 1에서 나타난 바와 같이 두 물질 각각 보다는 함께 첨가하는 것이 산화유도가 더 잘 되었다. 이것은 이 두 물질의 첨가시 Fenton 반응(12,17)을 통해 활성산소인 hydroxyl radical 생성이 촉진되기 때문에 이 활성산소는 일단 생성이 되면 산화방지 효소계에 의해서 소거가 되지 않으며 반응성이 강해 매우 유해한 것으로 알려져 있다(18). 그리고 37°C에서 산화 유도시 반응시간의 영향을 분석한 결과(Fig. 2), 시간에 따라 증가하던 지질산화도는 1시간대에 이르러서 거의 증가하지 않았다. 이로써, 식물체들의 효능 평가를 위해 사용한 최적의 산화유도 조건은 2.5  $\mu\text{M}$   $\text{FeSO}_4$ 와 50 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 perfusion된 뇌 homogenate에 첨가한 다음 37°C에 1시간 반응이었다.

#### 식물체 추출물의 조제 및 산화방지 효능의 분석

식물체로부터 산화방지 효능 평가에 필요한 추출물을 조제 하는데 있어서 최적의 추출시간을 조사하기 위하여, 일반적으로 산화방지효능이 인정되고 있는 마늘을 대표 소재로 이용하였다. 1g의 마늘분말에 10mL의 원충용액을 첨가한 후 magnetic stirrer를 이용하여 상온에서 교반시키면서 1, 2, 4, 19 시간동안 추출한 다음 원심분리하여 상등액을 취하였다. 이 상등액 0.1 mL의 지질산화방지 효능을 분석한 결과 Fig. 3에서와 같이 2 시간 추출에서 억제 효능이 가장 높게 나타나 이 조건을 기준으로 다른 식물체의 추출물을 조제하였다.

한편, 68종의 식물체로부터 얻어진 추출물을 대상으로  $\text{FeSO}_4$ 와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의해 유도된 뇌 homogenate의 산화적 손상을 방지하는 효과를 분석한 결과, 엽채류의 경우 Table 1에 나타난 바와 같이 아욱, 열무잎, 비름, 무순, 셀러리가 80% 이상, 케일, 쑥갓, 고사리, 고춧잎, 참두릅 등이 75% 이상의 효과를 나타냈다. 근채류(Table 2)에서는 조림감자, 생강, 고구마 등이 80% 이상, 당근, 레디쉬가 60% 이상의 산화방지 효능을 보였다. 과채류(Table 3)에서는 풋고추, 파리고추, 유니키, 가지 등이 60% 이상, 과일류(Table 4)에서는 아보카도가 96%, 오렌지, 바나나가 60% 이상의 산화방지 효능을 나타냈다. 버섯류(Table 5)에

서는 팽이버섯, 양송이버섯, 표고버섯, 새송이버섯, 느타리버섯의 순으로 산화방지 효능이 높았다. 한편, 본 실험에서 사용한 소재들 중 70% 이상의 효능을 보이는 비율을 소재군별로 비교한 결과, 엽채류에서는 65%, 근채류에서는 25%, 과채류에서는 11%, 과일류 10%, 버섯류 80% 별로 나타나 본 실험조건에서는 버섯류, 엽채류가 뇌 homogenate 산화억제에 우수한 효능을 보이는 군으로 확인되었다. 한편, Kim 등(19)은 식품소재들을 대상으로 활성산소인 superoxide 소거능 분석 시, 팽이버섯이 가장 효능이 높았는데, 본 연구에서 뇌조직산화억제 효과도 95%로 매우 높게 나타나 활성산소소거를 통한 생체보호에 우수한 소재로 기대가 되었다. 그리고 이와 유사하게 superoxide 소거 효능이 높았던 표고버섯, 브로콜리, 상추 등도 뇌조직 보호 효능이 우수한 것으로 확인되었다. 또한 Han 등(20)이 다양한 활성산소가 존재하는 담배연기로부터 폐조직을 보호할 수 있는 식품 소재를 조사한 바 있는데, 효능이 있는 소재 중 고사리, 부추, 감자, 당근, 연근, 배, 복숭아, 사과 표고버섯 등은 본 실험을 통해 뇌조직의 산화적 손상에도 효능이 있는 것으로 나타났다. 그러나 다른 소재들의 경우에는 superoxide 소거능, 폐조직 보호, 뇌조직 보호 등 대상에 따라 활성이 다른 경우도 많은데 이는 분석방법의 차이 즉, 활성산소의 종류나, 사용한 조직 내 성분의 차이 등에 기인한 것으로 판단된다. 한편, 효능 분석 결과 토마토, 살구, 자두, 파인애플, 귤 등은 (-) 값을 나타내었는데 이는 추출물 첨가 시 대조구보다 지질산화도 값이 더 높게 나타난 경우이다. 현재의 결과만으로도 이에 대한 정확한 이유를 설명하기는 어려우나 이 소재들의 경우 지질산화 촉진 인자의 존재 또는 자체 색상의 변화 증가 등과 관련이 있을 것으로 여겨진다. 그러나 정확한 원인 규명을 위해서는 향후 관련 연구가 필요할 것으로 판단된다.

#### 천연산화방지제의 효능 평가

천연산화방지제들은 일반적으로 대부분의 지질에 대한 산화방지 능력이 있으며 건강에 유용한 효능들이 밝혀지고 있다(21). 그러나 대상지질의 종류, 측정방법, 산화조건 등 다양한 인자에 따라 효능의 정도는 많은 차이를 나타낸다. 이와 같은 이유로  $\text{FeSO}_4$ 와  $\text{H}_2\text{O}_2$ 의 작용에 의해 유도된 뇌지질의 산화에

**Table 1. Inhibitory effect of aqueous extracts prepared from some leafy vegetables on lipid peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition (%)*
<i>Malva verticillate</i>	아욱	Mallow	88
<i>Raphanus sativus</i>	얼무잎	Young radish leaf	85
<i>Amaranthus mangostanus</i>	비름	Amaranthus	83
<i>Raphanus sativus</i>	무순	Radish bud	83
<i>Apium graveolens</i>	셀러리	Celery	80
<i>Brassica oleracea var. acephala</i>	케일	Kale	79
<i>Chrysanthemum coroncariium</i>	쑥갓	Crown daisy	79
<i>Pteridium aquilinum var. latiusculum</i>	고사리	Fern brake	77
<i>Hypericum erectum</i>	고춧잎	Red pepper leaf	77
<i>Aralia elata</i>	참두릅	Chadurup	76
<i>Petasites japonicus</i>	머우잎	Wild grape leaf	74
<i>Allium tuberosum</i>	부추	Leek	73
<i>Brassica olercea capitata</i>	양배추	Cabbage	72
<i>Petroselinum sativum</i>	파슬리	Parsley	71
<i>Brassica campestris L.</i>	얼갈이	Winter plowing	71
<i>Beta vulgaris var.cicla</i>	근대	Chard	70
<i>Brassica oleracea var.italica</i>	브로콜리	Broccoli	68
<i>Brassica campestris</i>	배추	Chinese cabbage	65
<i>Cichorium intybus</i>	치커리	Chicory	63
<i>Brassica oleracea</i>	적채	Red cabbage	60
<i>Lactuca sativa</i>	붉은 상추	Lettuce	56
<i>Allium sativum</i>	마늘쭉	Garlic flower stem	45
<i>Allium monanthum</i>	달래	Wild garlic	45

\*The meaning of inhibition was described in Materials and Methods.

**Table 2. Inhibitory effect of aqueous extracts prepared from some root vegetables on lipid peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition (%)
<i>Solanum tuberosum</i>	감자	Potato	93
<i>Zingiber officinate</i>	생강	Ginger	85
<i>Ipomoea batatas</i>	고구마	Sweet potato	85
<i>Daucus carota var.sativa</i>	당근	Carrot	67
<i>Raphanus sativus</i>	레디쉬	Radish	66
<i>Nelumbo nucifera</i>	연근	Lotus	59
<i>Beta vulgaris</i>	비트	Red beet	51
<i>Platycodon grandiflorum</i>	도라지	Broad bellflower	39
<i>Codonopsis lanceolata</i>	더덕	Wild plant	36
<i>Allium sativum</i>	마늘	Garlic	27
<i>Allium cepa</i>	양파	Onion	23

Burdock (*Arctium lappa*) showed a negative value.

대해서도 각 산화방지제의 효능은 차이를 나타내게 될 것으로 생각된다. 본 연구를 통하여 조사한 산화방지제중 수용성은 0.5 mM 농도로 뇌 homogenate에 첨가하였으며 물에 잘 녹지 않는 산화방지제의 효능을 평가하기 위해서는 용해보조제로서 ethanol을 첨가하였다. 효능분석에 되도록 영향을 주지 않는 ethanol 첨가량을 조사하기 위하여 2, 5, 10% 농도로 반응계에 첨가하여 지질산화도를 조사한 결과(Fig. 4), 활성산소에 노출되지 않는 경우에는 ethanol 함량 증가에 따라 지질산화도가 크게 변하지 않았다. 그러나 활성산소에 노출시킨 뇌 homogenate에서는 ethanol 함량이 증가함에 따라 지질산화도가 증가하였는데 10% 농도에서는 약 2 배가량 증가하여 대조구로 이용하기에는

문제가 되었다. 그러므로 지질산화도의 증가가 크지 않은 최대 ethanol 첨가수준으로 5%를 정하였다. 난수용성 산화방지제는 1 mM 농도로 먼저 ethanol에 녹인 후 0.1 mL를 전체 반응계에 첨가하였다.

Table 6에서 알 수 있듯이 많은 산화방지제들이 뇌 homogenate의 산화를 억제시키는데 효과가 있었는데 특히 (+)catechin(91%), (-)epigallocatechin gallate(85%), (-)epicatechin gallate(83%)과 kaempferol(83%) 등이 높은 억제 효과를 나타냈다. 한편 L-histidine, p-coumaric acid, kojic acid, glutathione, p-hydroxybenzoic acid 등은 억제효과에서 (-)값을 나타내어 대조구보다 오히려 뇌 homogenate의 지질산화를 더 증가시키는 것으로 나

**Table 3. Inhibitory effect of aqueous extracts prepared from some fruit vegetables on peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition (%)
<i>Capsicum longum</i>	풋고추	Green red pepper	76
<i>Capsicum spp.</i>	파리고추	Ggwari pepper	63
<i>Cucumis sativus</i>	쭈키니	Cucumber	63
<i>Solanum melongena</i>	가지	Eggplant	63
<i>Capsicum annum var.</i>	피망	Green pimento	59
<i>Cucurbata moschata</i>	애호박	Young pumpkin	53
<i>Capsicum annum var.</i>	홍피망	Red pimento	27
<i>Capsicum annum</i>	홍고추	Red pepper	20

Tomato (*Lycopersicon esculentum*) showed a negative value.

**Table 4. Inhibitory effect of aqueous extracts prepared from some fruits on lipid peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition (%)
<i>Persea americana</i>	아보카도	Avocado	96
<i>Citrus reticulata</i>	오렌지	Orange	70
<i>Musa spp.</i>	바나나	Banana	67
<i>Pyrus spp.</i>	배	Pear	56
<i>Cucumis spp.</i>	파파야메론	Papaya melon	53
<i>Malus pumila var. dulcissima</i>	아오리사과	Apple	53
<i>Cucumis melo</i>	머스크메론	Musk melon	49
<i>Cucumis spp.</i>	별똥별메론	Stardust melon	47
<i>Mangifera indica</i>	망고	Mango	44
<i>Citrullus vulgaris</i>	수박	Watermelon	41
<i>Prunus persica</i>	천도복숭아	Peach	39
<i>Malus pumila var. dulcissima</i>	사과	Apple	26
<i>Cucumis melo var. makuwa</i>	참외	Melon	25
<i>Citrus paradisi</i>	자몽	Grape fruit	20
<i>Cucumis spp.</i>	양구메론	Yanggumelon	12
<i>Actinidia chinensis</i>	키위	Kiwi	12

The following fruits showed negative values in the order of citrus (*Citrus unshiu*) <pineapple (*Ananas comosus*) <plum (*Prunus salicina*) <apricot (*Prunus sibirica*).

**Table 5. Inhibitory effect of aqueous extracts prepared from some mushrooms on lipid peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Scientific name	Korean name	English name	Inhibition (%)
<i>Flamm velutipes</i>	팽이버섯	Nameko	95
<i>Agaricus bisporus</i>	양송이버섯	Agaric mushroom	93
<i>Lentinus edodes</i>	표고버섯	Shiitake	74
<i>Tricholoma matsutake</i>	새송이버섯	Song-i mushroom	71
<i>Pleurotus ostreatus</i>	느타리버섯	Oyster mushroom	43

타났다. 한편, L-ascorbic acid의 경우 폐조직 보호(20)나 superoxide 소거능(22)에 우수한 효능을 보였으나 본 연구에서는 효능이 매우 낮은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 이전의 실험에서 사용하였던 농도보다 낮거나 또는 철 이온의 존재 하에서 라디칼을 생성할 수 있는 특성(23)과도 관련이 있을 것으로 판단된다. 이는 산화방지 평가방법의 차이에 따라 결과가 달라질 수 있음을 의미하며 목적에 맞는 평가방법의 활용 및 다양한 방법의 적용을 통해 정확한 기작의 이해가 뒷받침되어야 함을 의미한다고 하겠다.

결론적으로 본 연구를 통하여 활성산소에 의해 유도된 뇌조직의 산화적 손상을 억제할 수 있는 식품소재들을 탐색할 수

있었고, 향후 이들 소재의 활용 가능성을 확인하기 위해서는 생리활성물질의 구명 및 *in vivo* 실험 등이 수행되어야 할 것이다.

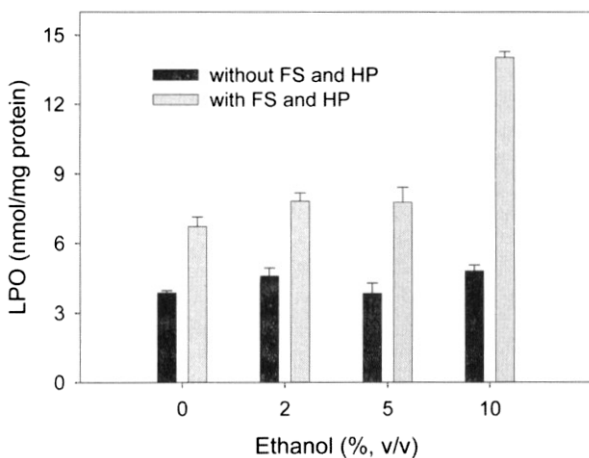
## 요 약

Sprague-Dawley계열의 흰쥐를 perfusion시킨 후 분리한 뇌조직을 이용하여 뇌의 산화적 손상을 억제할 수 있는 식물체 및 항산화제의 활성을 조사하였다. 뇌의 산화적 손상 유도를 위해서는 활성산소원으로 2.5  $\mu$ M ferrous sulfate와 7.5 mM hydrogen peroxide를 뇌조직 homogenate에 첨가하였으며 손상의 정도는

**Table 6. Inhibitory effect of some antioxidants on lipid peroxidation of brain homogenate induced by reactive oxygen species**

Antioxidant	Inhibition (%)	Antioxidant	Inhibition (%)
(+)Catechin	91	Uric acid	28
(-)Epigallocatechin gallate	85	Sinapinic acid	27
(-)Epicatechin gallate	83	Daidzein	17
Kaempferol	83	3,4-Dimethoxybenzoic acid	17
Caffeic acid	79	Syringic acid	17
Chlorogenic acid	78	D-Mannitol	14
Melatonin	75	Benzoic acid	11
$\alpha$ -Tocopherol	69	Vanillic acid	9
Sesamol	51	Fumaric acid	7
Protocatechuic acid	43	L-Ascorbic acid	3
Eugenol	38	Ferulic acid	2
Gentistein	34		

The following antioxidants showed negative values in the order of *p*-hydroxybenzoic acid <(-)epicatechin <glutathione <methionine <kojic acid <gentisic acid <*p*-coumaric acid < salicylic acid <L-histidine.



**Fig. 4. Effect of ethanol concentration on lipid peroxidation induced by ferrous sulfate and hydrogen peroxide.**  
The meaning of FS and HP are same as in Fig. 1.

malondialdehyde와 4-hydroxyalkenal 총 함량으로 표현되는 지질 과산화도(LPO)를 이용하였다. 37°C에서 10 분간의 처리 시 LPO는 4.1에서 6.9 nmol/mg protein 증가하였다. 한편, 식물체들의 뇌 손상 억제 효과를 분석하기 위해, 68종의 식용식물체로부터 수용성 추출물을 조제한 후 이를 활성산소 처리 전에 뇌 조직 homogenate에 첨가함으로써 지질산화 억제 정도를 비교하였다. 그 결과 열채류에서는 아욱, 열무잎, 비름, 무순, 셀러리 등이, 근채류에서는 조림감자, 생강, 고구마 등이 80% 이상의 LPO 억제 효과를 나타냈다. 과채류와 과일에서는 풋고추, 파리고추, चुनिकी, 가지, 아보카도, 오렌지, 바나나 등이 60% 이상의 효과를 보였으며, 버섯류에서는 팽이버섯, 양송이버섯, 표고버섯, 새송이버섯, 느타리버섯 순으로 효과가 높게 나타났다. 한편, 32종의 항산화제 중에서는 (+)catechin(91%), (-)epigallocatechin gallate(85%), (-)epicatechin gallate(83%), kaempferol(83%), chlorogenic acid(78%), melatonin(75%),  $\alpha$ -tocopherol(69%) 등이 산화적 뇌 손상 방어에 우수한 것으로 나타났다.

**문 헌**

1. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Med-

icine, 2nd ed., Glarendon Press, Oxford, UK, pp. 86-133 (1993)  
 2. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 78: 547-581 (1998)  
 3. Omodeo-Salé F, Gramigna D, Campaniello R. Lipid peroxidation and antioxidant systems in rat brain: effect of chronic alcohol consumption. *Neurochem. Res.* 22: 557-582 (1997)  
 4. Good PF, Werner P, Hsu A, Olanow CW, Perl DP. Evidence for neuronal oxidative damage in Alzheimer's disease. *Am. J. Pathol.* 149: 21-28 (1996)  
 5. Eriksson CJ, Na A. Antioxidant agents in raw materials and processed foods. *Biochem. Soc. Symp.* 61: 221-234 (1996)  
 6. Silveria ER, Moreno FS. Natural retinoids and  $\beta$ -carotene: From foods to their actions on gene expression. *J. Nutr. Biochem.* 9: 446-456 (1998)  
 7. Pitchumoni, S.S. Doraiswamy, P.M. Current status of antioxidant therapy for Alzheimer's disease. *J. Am. Geriatr. Soc.* 46: 1566-1572 (1998)  
 8. Vatassery GI. Vitamin E and other endogeneous antioxidants in the central nervous system. *Geriatrics* 53: S25-S27 (1998)  
 9. Inanami O, Watanabe Y, Syuto B, Nakano M, Tsuji M, Kuwabara M. Oral administration of (-)catechin protects against ischemia-reperfusion-induced neuronal death in the gerbil. *Free Rad. Res.* 29: 359-365 (1998)  
 10. Ramaranthnan N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trend Food Sci. Technol.* 6: 75-82 (1995)  
 11. Pless G, Frederiksen TJ, Garcia JJ, Reiter RJ. Pharmacological aspects of N-acetyl-5-methoxytryptamine (melatonin) and 6-methoxy-1,2,3,4-tetrahydro-beta-carboline (pinoline) as antioxidants: reduction of oxidative damage in brain region homogenates. *J. Pineal Res.* 26: 236-246 (1999)  
 12. Wardman P, Candeias LP. Fenton chemistry: an introduction. *Radiation Res.* 145: 523-31 (1996)  
 13. Esterbauer II, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol.* 186: 407-421 (1990)  
 14. Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantification of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254 (1976)  
 15. Uchida K, Stadtman ER. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. *J. Biol. Chem.* 268: 6388-6393 (1993)  
 16. Park J-W, Floyd RA. Lipid peroxidation products mediate the formation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA. *Free Rad. Biol. Med.* 12: 245-250 (1992)  
 17. Schaich KM, Borg DC. Fenton reaction in lipid phases. *Lipids* 23: 570-579 (1988)  
 18. McCord J, Day D. Superoxide-dependent production of hydroxyl radical catalyzed by ion-EDTA complex. *FEBS Lett.* 86: 139-142

(1978)

19. Kim SJ, Han D, Park MH, Rhee JS. Screening for superoxide dismutase-like compounds and its activators in extracts of fruits and vegetables. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 2263-2265 (1994)
20. Han D, Kim SH, Kim SJ. Screening for plants to suppress oxidation of pulmonary microsome exposed to cigarette smoke. *Food Sci. Biotechnol.* 8: 251-256 (1999)
21. Frei B. Natural antioxidants in human and disease. Academic Press, London, UK. pp. 107-128 (1994)
22. Kim SJ, Han D, Moon KD, Rhee JS. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59: 822-826 (1995)
23. Kim SJ, Reiter RJ, Qi W, Tan D, Cabrera J. Melatonin prevents oxidative damage to protein and lipid induced by ascorbate- $Fe^{3+}$ -EDTA: Comparison with glutathione and  $\alpha$ -tocopherol. *Neuroendocrinol. Lett.* 21: 269-276 (2000)

---

(2005년 8월 9일 접수; 2005년 10월 6일 채택)