J. Fd Hyg. Safety 16(1), 41–47 (2001)

녹차카테킨이 지질과산화 및 Superoxide Dismutase에 미치는 영향

강원식 · 이윤희 · 정현희 · 강민경 · 김택중 · 홍진태* · 윤여표†
충북대학교 약학대학,
*식품의약품안전청 독성연구소

Effects of Green Tea Catechins on the Lipid Peroxidation and Superoxide Dismutase

Won-Seek Kang, Yun-Hee Lee, Hyun-Hee Chung, Min-Kyung Kang, Tack-Joong Kim, Jin-Tae Hong* and Yeo-Pyo Yun†
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheong Ju 361-763, Korea
**National Institute of Toxicological Research, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea*

ABSTRACT – The purpose of this study was to elucidate the effects of green tea catechins (GTC) on the lipid peroxidation and superoxide dismutase (SOD). GTC showed the high SOD activity, while significantly inhibited the peroxide value of linoleic acid (93%) and lipid peroxidation (84%) from rat liver microsomal fraction induced by Fe^{2+}/ascorbate system. The effects of GTC on the SOD and catalase activities, and lipid peroxidation after oral administration were investigated. GTC (50 mg/kg) significantly increased SOD (62%) and catalase activities (75%), while significantly inhibited the lipid peroxidation (52%) of rat liver microsome in a dose-dependent manner. These results suggest that GTC has the antioxidative effect which is related to the prevention of aging and cancer.

Key words □ Green tea catechins, antioxidative effect, lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase activity

녹차는 세계적인 비알콜성 음료로서 영양 및 기호식품일 뿐만 아니라 암을 비롯한 각종 질병의 예방 및 치료는 물론 생리조절의 관점에서 볼 때 신체조절기능을 가진 기능성 식품이기도 하다. 녹차는 차나무(*Camellia sinensis*, 차나무과)의 잎을 말린 것으로 흥분, 강심, 이뇨, 해열, 수렴 등의 약리학적 작용을 가지는데 이는 녹차중의 caffeine 성분에 의한 것이며, 혈관강화작용은 catechin 등의 polyphenol류에 의한 것이다. 녹차의 polyphenol류에 대해서 다양한 생리활성이 연구되고 있으며, 이중에 catechin에 의한 활성, 즉 혈압강하작용,[1] 암 발생 억제효과,[2-9] HIV 역전사효소 억제작용,[10,11] cholesterol 재흡수 억제,[12] 충치예방[13] 등 여러가지 약리효과에 대한 보고와 항혈전 및 혈소판응집 저해활성[14-16]이 보고되어 있다.

또한, 녹차는 노화방지, 질병예방, 피로회복, 성인병에 유효한 효능을 가지는 것으로 보고 되고 있는데, 노화와 질병에 관해서 최근에 주목을 받고 있는 free radical에 관한 학설[17]에 비추어보면 녹차의 효능이 free radical과 관련을 가지고 있다고 생각되어진다. 즉, free radical로 인하여 인체의 과산화작용을 증가시켜서 질병이 발생한다는 것인데, 활성산소에 의한 지질과산화가 성인병의 발병과 노화의 주요 원인으로 밝혀지고 있다.[18-20]

녹차는 polyphenol 성분의 항산화능에 의해 암과 심혈관계질환 등 성인병의 예방제로 알려져 있는데, Hasegawa 등은 carcinogen인 2-nitropropane의 복강투여시 녹차음용군은 대조군에 비해 간 조직의 과산화지질이나 AST와 ALT가 모두 억제된다고 보고하고 있다.[21-24] 또한 녹차의 음용이 화학물질 및 자외선 등에 의한 암 발생을 억제하며 이는 주로 녹차의 항산화 활성에 기인한다고 보고되어 있다.[25] 따라서 항산화 효능이 있는 녹차를 이용하여 활성산소를 제거하여 체내 항산화 시스템을 보호하고 나아가 산화적 손상을 억제할 수 있을 것으로 생각된다. 그리고, 예로부터 flavonoid와 tannin류 성분을 가지고 있는 식물들은 동맥경화와 뇌졸중 등의 성인병과 노화방지를 위해 건강식품이나 생약등으로 사용되어 왔는데, 이것은 flavonoid류 및 tannin류 성분의 항산화 작용에 기인한다고 생각되어진다. 이것이 그 식물과 생약의 유효한 효과 중의 하나로 작용하는 것으로 생각되기에 녹차에서 카테킨 성분을 분리하여 항산화 효과를 연구하였다.

따라서, 본 연구에서는 녹차카테킨(GTC)의 항산화 활성을

†Author to whom correspondence should be addressed.

시험하기 위해 *in vitro*에서 superoxide dismutase(SOD) 활성과 지질과산화물 생성 저해효과를 측정하였고, 생체내에서 항산화 활성을 시험하기 위해 GTC를 rat에 경구 투여하고 사염화탄소로 지질과산화를 유도시킨 후 microsome 분획을 얻어서 SOD활성과 catalase활성 그리고 지질과산화 저해효과를 측정하였다.

재료 및 방법

녹차카테킨(GTC)의 제조

녹차엽(*Camellia sinensis*, (주)태평양) 100 g을 취하여 70% ethanol 1000 ml로 90-95℃에서 3시간 1차 추출 후에 70% ethanol 500 ml로 같은 조건에서 3시간 2차 추출을 완료한 후 녹차의 고형성분을 압착하여 제거하고, 추출액을 합하여 vacuum rotary evaporator에서 45℃로 약 100 ml가 될 때까지 농축했다. 농축액을 H_2O로 2-3배 희석시킨 후 23,700 × g에서 20분간 원심분리하여 고형성분을 완전히 제거한 후 모아진 상징액에 대하여 1.2배의 chloroform으로 2회 추출한 다음 chloroform 층을 버리고 수층에 대한 1.2배의 ethylacetate로 4회 추출하여 얻은 액을 합한 후 ethylacetate가 완전히 없어질 때까지 감압 건고 시켰다. 다시 소량의 물로 용해시킨 후 동결 건조하여 녹차카테킨(GTC) 분말을 얻었다. 이 GTC는 건조엑스로서 1 g이 원생약 약 10 g에 상당하며, 건조물을 정량하면 총 카테킨류를 75%이상 함유하고 그 중 epigallocatechin gallate(EGCG; $C_{22}H_{18}O_{11}$)가 25% 이상을 함유했다.

실험동물 및 시약

본 실험에 사용된 Sprague-Dawley(SD) rat는 삼육동물에서 분양받아 2주 이상 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. SD rat는 몸무게 200-220 g의 female, 8주령 되는 것을 사용하였고, 사료는 삼양유지의 마우스용 pellet사료를 주었으며, 물은 자유롭게 먹게 하고, 12h/12h(L/D) cycle의 조건에서 실험하였다. 시약은 Sigma Chemical사로부터 공급받아 사용하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 활성 측정

SOD의 활성 측정은 Fridovich[26] 방법에 준해서 측정했다. Xanthine/xanthine oxidase반응으로 생성된 superoxide anion에 의해 cytochrome c가 환원되는 것을 측정하는데, SOD에 의해 superoxide anion의 양이 감소하여 cytochrome c의 변화 속도가 감소하는 현상을 이용하여 SOD활성을 측정하였다. Cytochrome c의 환원을 50% 억제하는 양을 SOD의 1 unit로 정의하였다. Control의 OD/min를 50% 만큼 억제하는 양으로 실험에서는 SOD역가 (specific activity = mg당 unit)를 구하였다.

Cytochrome c 38 mg, 2 μM xanthine 10 ml(0.001 N NaOH), 50 mM sodium phosphate buffer(pH 7.8, 0.1 mM EDTA) 100 ml를 넣고 혼합한 기질액 2 ml에 희석한 GTC 50 μl를 넣고 2분간 안정화시킨 후 xanthine oxidase(0.2 unit/ml, 0.1 mM EDTA) 50 μl를 cuvette에 넣고 혼합하여 spectrophotometer를 이용하여 550 nm에서 2분간 흡광도를 측정하였다.

Peroxide value(POV) 측정

시료의 지질 과산화물 생성 억제 효과를 linoleic acid를 기질로 사용하여 Nose[27]의 방법으로 POV를 측정했다. Linoleic acid(L-1876) 100 μl와 각 시료(5 mg/ml) 5 μl를 1.6 cm × 6 cm의 시험관에 넣어 50℃ 항온기에서 24시간 저장하여 산화를 촉진시킨 후 chloroform/acetic acid(2:3, v/v) 35 ml에 용해시키고, 이 용액을 250 ml 공전 삼각플라스크에 넣은 후 공기를 질소로 치환시켰다. KI 포화수용액 1 ml를 첨가하고 1분간 격렬하게 혼합한 후 암소에서 5분간 방치시키고, 여기에 증류수 75 ml와 전분시액 1 ml를 첨가하고, 0.01 N sodium thiosulfate 용액으로 요오드를 역적정하여 POV를 측정하였다.

지질과산화 측정

흰쥐 간 microsome 분획의 조제 – 흰쥐의 간을 0.15 M KCl로 perfusion한 후 적출하여 잘게 자른 후 미리 냉각시킨 4배 용량의 완충용액(50 mM Tris-HCl, pH 7.4)을 넣고 분쇄기를 이용하여 조직을 균일화하였다. 이것을 8,000 × g로 15분간 원심분리한 후 상징액을 다시 10,000 × g로 20분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직, 절편 및 미토콘드리아를 제거하였다. 상징액을 100,000 × g로 1시간 원심분리한 후 침강한 pellet을 균질화용액에 현탁시키고 100,000 × g로 다시 한번 원심분리하여 침강한 pellet을 microsome 분획으로 분취하였다. 조제한 microsome 분획은 Biuret 방법[28]에 준하여 단백질을 정량하고 -70℃에서 냉동 보관하여 사용하였다.

Fe/ascorbate system 반응액의 조제 – 시료 2 mg을 MeOH 1 ml에 용해하여 사용하였다. 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.5) 1.6 ml에 시료용액 0.1 ml, 간 microsome분획(1 ml중 1 mg의 단백질 함유) 0.1 ml, 0.1 mM ascorbate 0.1 ml, 5 mM $FeSO_4$ 0.1 ml를 차례로 가하여 반응액을 조제하였다. 이때, 반응계 중의 시료 물질농도를 200 μg이 되도록 반응액을 조제하였다.[29]

지질과산화 억제활성의 검정 – 위에서 조제한 각 반응액

을 잘 혼합하여 37°C에서 1시간 반응시켰다. 3 M TCA와 2.5 N HCl의 혼합용액 0.5 ml를 가한 후 1,000 × g로 10분간 원심분리하였다. 상징액 1 ml를 0.67% TBA용액 1 ml와 혼합하고 끓는 물속에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 실온으로 냉각시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.[30] 대조시료는 시료용액을 첨가하지 않은 것을 사용하였고, 반응액을 첨가하지 않은 것을 공시료로 사용하였다. Tetramethoxypro- pane을 표준액으로 하여 malondialdehyde(MDA)를 정량하였다.

생체내에서 항산화작용에 미치는 영향

사염화탄소에의한 지질과산화 유발 – 흰쥐 1군을 5마리로 하여 두 군은 5일간 GTC를 saline에 녹여서 10 mg/kg, 50 mg/kg씩 경구 투여하였고, 두 군은 검액 대신 saline을 투여하였다. 투여 마지막 날 미리 6시간 절식시키고 corn oil에 용해시킨 CCl_4를 4 ml/kg씩 경구 투여하였다. 검액은 투여하지 않고 CCl_4만 투여하여 양성 대조군으로 하였고, CCl_4 및 검액을 투여하지 않고 corn oil만 투여하여 정상 대조군으로 하였다.

Catalase 활성 측정 – H_2O_2를 기질로 하여 H_2O_2를 소모하는 속도를 측정하여 이 간 microsome의 catalase activity를 측정하였다.[31,32] 30% hydrogen peroxide 30 μl를 0.05 M potassium phosphate buffer 5 ml(pH 7.0)에 녹여서 기질로 사용했다. 효소로 간 microsome 분획을 100배 농도로 희석하여 사용하였다. 0.05 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 570 μl, 기질 330 μl와 효소원으로 간 균질화물 희석액 100 μl를 cuvette에 넣고 혼합한 후 240 nm에서 10초 간격으로 40초간 흡광도를 측정하였다.

Lipid peroxide 함량 측정 – 상기의 간 microsome 분획의 균질액에 10% sodium dodecyl sulfate 용액을 첨가하고 실온에서 30분간 방치한 다음 0.1 M HCl과 0.375% thiobarbituric acid 용액을 가한다. 혼합액을 끓는 물에서 45분간 반응시킨 후, 냉각하여 BuOH을 가해 혼합하고 1,000 × g에서 원심분리한 후 상층의 BuOH층을 532 nm에서 흡광도를 측정하였고, tetramethoxypropane을 표준액으로 사용하여 MDA량을 정량하였다.

통계처리

본 실험에서의 결과치의 유의성은 Student's t-test 법으로 검정하였다.

결과 및 고찰

Cytorchrome c 방법을 이용하여 생물에서 대사중 발생하는 유해산소 중의 하나인 superoxide를 화학적으로 소거할 수 있는 능력을 가진 superoxide dismutase(SOD) 활성을 측정한 결과 Table 1에서 보는 바와 같다. GTC의 SOD 활성은 15,727 unit/g으로서 양성 대조 항산화물질인 quercetin 보다는 낮으나 Rooibos tea보다는 높은 활성을 나타냈다. GTC의 linoleic acid의 과산화물 생성 억제 활성 실험 결과는 Table 2와 같다. GTC의 linoleic acid 기질에 대한 과산화물 생성 억제 효과는 92.5%로서, 양성 대조 항산화물질인 BHT(89.8%)와 quercetin(83.6%) 보다 높은 억제 효과가 나타났다. 세포하 수준에서의 항 지질과산화 활성을 알아보기 위해서, 간 microsome 분획을 지질원으로 사용하여 GTC의 비효소적 지질과산화 억제활성을 검정한 결과는 Table 3에서 보는 바와 같다. GTC의 경우 83.8% 억제효과를 나타냄으로써 양성 대조 항산화물질인 BHT(89.8%)와 비슷하게 비

Table 1. Effect of green tea catechins on superoxide dismutase activity

Sample	SOD activity (Unit/g)[a,b]
Quercetin (50 μg)	93,750
Rooibos tea (50 μg)	861
GTC (50 μg)	15,727

[a]SOD activity was measured by cytochrome c method.
[b]Each value represents mean value of duplicate determination.
GTC means green tea catechins, SOD means superoxide dismutase.

Table 2. Inhibitory effect of green tea catechins on peroxide formation and lipid peroxidation from rat liver microsome induced by Fe^{2+}/ascorbate system

Sample	POV (meq/kg)[a]	Inhibition (%)[b]
Control	1225.3	-
Quercetin (25 μg)	200.6	83.6
BHT (25 μg)	124.8	89.8
GTC (25 μg)	91.6	92.5

[a]Each value represents the mean value of duplicate determination.
[b]Inhibition percent (%)=[1-(sample POV/control POV)] ×100
GTC means green tea catechins, POV means peroxide value.

Table 3. Inhibitory effect of green tea catechins on lipid peroxidation from rat liver microsome induced by Fe^{2+}/ascorbate system

Sample	MDA[a] (nmol/mg protein)	Inhibition percent (%)[b]
Control (200 μg)	3.73	-
BHT (200 μg)	0.41	89.1
GTC (200 μg)	0.60	83.8

[a]Each value represents the mean value of duplicate determination.
[b]Inhibition percent (%)=[1-(sample MDA/control MDA)] × 100
GTC means green tea catechins, MDA means malondialdehyde.

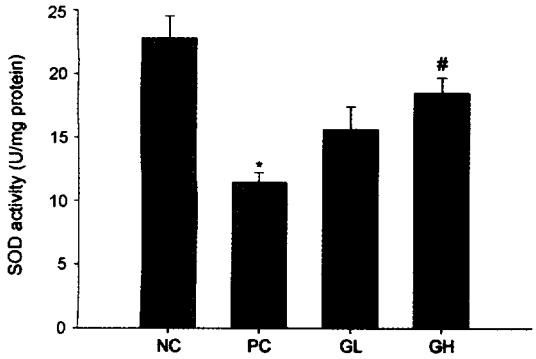

Fig. 1. Effect of green tea catechins on superoxide dismutase activity in rat liver microsome
NC : normal control, PC : CCl_4 treated,
GL : GTC 10 mg/kg+CCl_4, GH : GTC 50 mg/kg+CCl_4,
GTC means green tea catechins, SOD means superoxide dismutase.
*$p<0.05$, significantly different from normal control,
#$p<0.05$, significantly different from CCl_4 treatment.
Each group represents the mean ± S.D.

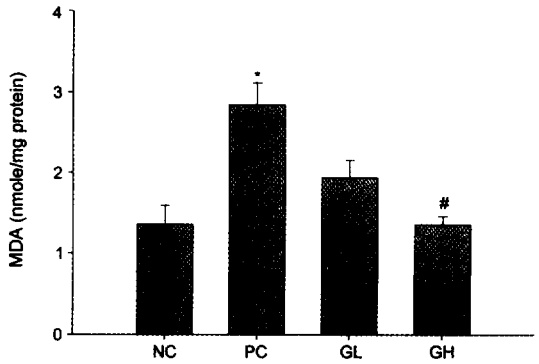

Fig. 3. Effect of green tea catechins on lipid peroxidation in rat liver microsome
NC : normal control, PC : CCl_4 treated,
GL : GTC 10 mg/kg+CCl_4, GH : GTC 50 mg/kg+CCl_4,
GTC means green tea catechins, MDA means malondialdehyde.
*$p<0.05$, significantly different from normal control,
#$p<0.05$, significantly different from CCl_4 treatment.
Each group represents the mean ± S.D.

효소적 지질과산화 반응을 효과적으로 억제하고 있는 것으로 나타났다.

생체내에서의 항산화작용, 즉 SOD 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, GTC를 rat에 5일간 경구투여 한 후 간 microsome 분획에 존재하는 SOD 활성에 미치는 실험결과를 Fig. 1에 나타냈다. CCl_4 투여로 간 SOD 활성은 정상 대조군에 비해 50% 감소하였으나, GTC 10 mg/kg 투여군에서는 CCl_4 투여군에 비해서 37% 증가했으며, 50 mg/kg 투여군에서는 유의성 있게 62%의 증가를 나타냈다. 또한,

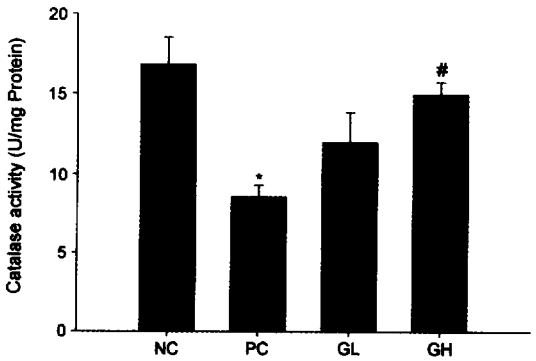

Fig. 2. Effect of green tea catechins on catalase activity in rat liver microsome
NC : normal control, PC : CCl_4 treated,
GL : GTC 10 mg/kg+CCl_4, GH : GTC 50 mg/kg+CCl_4,
GTC means green tea catechins.
*$p<0.05$, significantly different from normal control,
#$p<0.05$, significantly different from CCl_4 treatment.
Each group represents the mean ± S.D.

GTC를 rat에 5일간 경구투여 한 후 간 microsome 분획에 존재하는 catalase 활성에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타냈다. CCl_4 투여로 간 catalase 활성은 정상 대조군에 비해 55% 감소하였으나, GTC 10 mg/kg 투여군에서는 CCl_4 투여군에 비해서 40% 증가했으며, 50 mg/kg 투여군에서는 75%의 증가를 나타내었고 유의성이 있었다. 그리고, GTC를 rat에 5일간 경구 투여한 후 간 microsome 분획의 지질과산화의 지표인 MDA의 생성에 미치는 영향을 Fig. 3에 나타냈다. CCl_4 투여군의 경우 간 과산화치(MDA)가 정상 대조군에 비해 2.1배의 증가를 보였으나, GTC 10 mg/kg 투여군에서는 CCl_4 투여군에 비해서 32% 감소했으며, 50 mg/kg 투여군에서는 52%의 감소가 나타났고 유의성이 있었다.

유산소 호흡을 하는 모든 생명체는 정상적인 대사과정에서 radical과 활성산소를 생성한다. 즉, 미토콘드리아내의 호흡이나 단핵 세포의 작용, 여러 효소들의 반응에 의해 자연적으로 발생하게 되며 이러한 활성산소는 그 자체로 화학적 친화력이 크기 때문에 모든 세포 성분과 반응하여 세포의 구조적, 기능적 변화를 가져온다.[33-36]

적정량의 활성산소는 생체내 면역 기능에 관계된 체내 식세포나 대식 세포의 살균 작용등에서 긍정적인 효과를 나타내지만 산화-항산화의 균형을 깨뜨리는 과다한 양의 활성산소는 단백질의 변성이나 생체막의 지질 산화, DNA의 변성 등을 일으켜 산화적 스트레스를 발생시킨다.[37,38] 즉, 단백질의 -SH기와 활성산소가 반응하여 효소의 활성을 잃게 하고 생체막의 산화에 따른 막 손상에 의해 cell death를 유발한다. 특히 이러한 불균형은 내부적인 요인에 의해서 일어날

수도 있으나 최근에는 환경 조건의 악화나 생활습관의 변화에 의해 자외선의 노출, 오존 등 대기오염의 증가, 흡연과 알코올의 남용, 농약과 같은 환경독성물질 등의 외적 환경요인이 주된 산화적 스트레스의 원인이 되고 있다.

간세포를 비롯한 생체내 세포는 free radical에 의한 지질과산화에 대해 방어기전을 가지고 있다. 지질과산화 현상은 세포막의 주요 구성 성분인 인지질을 구성하는 불포화 지방산이 활성산소와 결합함으로써 시작된다. 지질과산화 반응으로 인하여 세포막을 구성하는 인지질은 알코올, 케톤 및 알데히드 등으로 분해되어 세포막의 정상적인 작용을 상실하게 된다. 이들 분해 산물은 효소의 활성을 억제하며, 세포괴사 및 미세 혈관 병변 등의 원인으로 알려져 있다.

지질과산화를 통해 세포 독성을 일으키는 화학물질로는 사염화탄소, 클로르포름, 에탄올, 브로모벤젠 등이 있다. 생체내로 유입되는 이러한 화학물질들에 의해 생성된 free fradicals은 지질과산화, 단백질 파괴, 염색체 이상 및 적혈구 파괴 등 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있으나,[39,40] 조직은 내인성 제거제를 함유하고 있어서 free radical에 의한 손상을 방어한다.[41]

이러한 내인성 free radical 제거제 중 superoxide radical 제거제로서 superoxide dismutase는 두 개의 superoxide anion radicals를 hydrogen peroxide와 산소로 전환시키는데 촉매작용을 함으로써 superoxide anion radicals에 의해 생기는 산화적 손상에 대해 세포를 방어한다.

본 실험 결과 GTC는 항산화 작용과 연관된 과산화지질 생성 억제 효과가 강하게 나타났다. 또한 GTC는 과산화물 생성 억제효과와 rat의 간 microsome의 지질과산화 억제효과를 가지는데, 강력한 항산화력을 가진 quercetin과 BHT의 효과와 비슷한 억제력을 보였다. 항산화 작용과 관련하여 SOD 효과와 과산화물 생성 억제효과와 rat 간 microsome의 지질과산화 억제효과로 볼 때, GTC가 항산화 작용 및 세포막을 보호해줄 것으로 사료되나, 이러한 작용이 어떠한 기전에 의해서 일어나는지에 관해서는 더욱 구체적인 연구가 이루어져야 할 것이다.

그리고, GTC를 실험동물에 투여하였을 때 CCl_4에 의해 억제되었던 SOD와 catalase의 활성이 유의성 있게 회복됨을 관찰할 수 있었으며 과산화지질의 생성은 대조군 수준으로 억제되었다. CCl_4는 체내에서 대사되어 활성화 형태인 친전자 화합물인 free radical($CCl_3\cdot$)로 전환되어 간기능 손상이나, 지질과산화를 일으키는 것으로 알려져 있다. 한편, 화학물질이 약물대사계를 통하여 산화되는 동안 발생하게 되는 superoxide anion radical(O_2^-)은 SOD에 의해, hydrogen peroxide(H_2O_2)는 catalase에 의해 각각 무독한 물질로 전환되지만, 이 효소들이 활성이 억제되었을 경우에는 superoxide anion radical 및 hydroxy radical들이 세포막 손상을 일으키는 원인이 되거나 노화를 촉진시킨다고 알려져 있다. 이러한 점을 고려해 볼 때, GTC는 해독과정에 관여하는 효소의 활성을 증가시켜 줌으로써 생체를 독성물질로부터 보호해 줄 것으로 생각되어진다.

이상의 결과들을 요약하면, GTC는 *in vitro*에서 SOD 활성을 높이면서 지질과산화와 peroxide 생성을 억제시켰고, rat에 경구 투여시에도 지질과산화를 억제시키고 SOD와 catalase 활성을 유의성 있게 억제시켰다. 따라서 본 GTC의 이러한 항산화 활성은 녹차의 노화 방지 작용과 암을 비롯한 각종 성인병의 예방 효과와 관련성이 높을 것으로 사료된다.

국문요약

녹차카테킨(GTC)의 항산화 작용을 알아보고자 *in vitro*와 *in vivo*에서 지질과산화와 superoxide dismutase(SOD), catalase 활성에 미치는 영향에 대한 실험을 행하였다. *In vitro* 시험계에서의 항산화활성 실험결과, GTC는 peroxide value와 과산화지질 생성을 유의성 있게 억제시켰고, SOD 활성이 매우 높았다. 또한 GTC를 rat에 경구투여 한 후 항산화활성 실험 결과, GTC는 CCl_4로 유도된 rat의 간 microsome의 지질과산화를 유의성 있게 억제시켰으며, SOD와 catalase 활성을 유의성 있게 증가시켰다. 따라서 GTC는 암과 노화의 예방과 관련이 되는 항산화 활성이 있는 것을 알 수 있었다.

참고문헌

1. Hara, Y., Matsuzaki, T. and Suzuki, T.: Angiotensin I converting enzyme inhibiting activity of tea components, *Nippon Nogeikagaku Kaishi*, **61**, 803-11 (1987).
2. Xu, Y., Ho, C.T., Amin, S.G., Han, C. and Chung, F.L.: Inhibition of tobacco-specific nitrosamine-induced lung tumorigenisis in A/J mice by green tea and its major polyphenol as antioxidants., *Cancer Res.*, **52**, 3875-9 (1992).
3. Hayatsu, H., Inada, N., Kakutani, T., Arimoto, S., Negishi, T.,

Mori, K., Okuta, T. and Sakata, I.: Suppression of genotoxicity of carcinogens by (−)-epigallocatechin gallate., *Prev. Med.*, **21**, 370-6 (1992).
4. Sakagami, H., Asano, K., Hara, Y. and Shimamura, T.: Stimulation of human monocyte and polymorphonuclear cell iodination and interleukin-1 production by epigallocatechin gallate., *J. Leukoc. Biol.*, **51**, 478-83 (1992).
5. Huang, M.T., Ho, C.T., Wang, G.Y., Ferraro, T., Finnegen-Olive, T., Lou, Y. R., Mitchell, J. M., Laskin, J. D., Newmark, H. and Yang, C.S.: Inhibitory effect of topical application of a green tea polyphenol fraction on tumor initiation and promotion in mouse skin., *Carcinogenesis*, **13**, 947-54 (1992).
6. Austin, C.A., Patel, S., Ono, K., Nakane, H. and Fisher, L.M. : Site-specific DNA cleavage by mammalian DNA topoisomerase II induced by novel flavone and catechin derivatives., *Biochem. J.*, **282**, 883-9 (1992).
7. Agarwal, R., Katiyar, S.K., Zaidi, S.I.A. and Mukhtar, H.: Inhibition of skin tumor promoter-caused induction of epidermal ornithine decarboxylase in SENCAR mice by polyphenolic fraction isolated from green tea and its individual epicatechin derivatives., *Cancer Res.*, **52**, 3582-8 (1992).
8. Conney, A.H., Wang, Z.Y., Huang, M.T., Ho, C.T. and Yang, C.S.: Inhibitory effect of green tea on tumorigenesis by chemicals and ultraviolet light., *Prev. Med.*, **21**, 361-9 (1992).
9. Mukhtar, H., Wang, Z.Y., Katiyar, S.K. and Agarwal, R.: Tea components: Antimutagenic and anticarcinogenic effects., *Prev. Med.*, **21**, 351-60 (1992).
10. Nakane, H. and Ono, K.: Differential inhibitory effects of some catechin derivatives on the activities of human immunodeficiency virus reverse transcriptase and cellular deoxyribonucleic and ribonucleic acid polymerases., *Biochemistry*, **29**, 2841-5 (1990).
11. Kakiuchi, N., Kusumoto, I.T., Hattoro, M., Namba, T., Hatano, T. and Okuda, T.: Effect of condensed tannins and related compounds on reverse transcriptase., *Phytother. Res.*, **5**, 271 (1991).
12. Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, E., Nakayama, M., Nagao, H., Takeo, T., Yayabe, F. and Sugano, M. : Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats., *Biochem. Biophys. Acta.*, **1127**, 141-6 (1992).
13. Otake, S., Makimura, M., Kuroki, T., Nishihara, Y. and Hirasawa, M.: Anticaries effects of polyphenolic compounds from Japanese green tea., *Caries Res.*, **25**, 438-43 (1991).
14. Yamanaka M.: Antiplatelet aggregation effects of tea extracts and catechins., *Proceedings of Annual Conference of Nippon Nogeikagaku* **62**, 627-34 (1988).
15. Sagesaka-Mitane, Y., Miwa, M. and Okada, S.: Platelet aggregation inhibitors in hot water extract of green tea., *Chem. Pharm. Bull.*, **38**, 790-3 (1990).
16. Kang, W.S., Lim, I.H., Yuk, D.Y., Chung, K.H., Park, J.B., Yoo, H.S. and Yun, Y.P.: Antithrombotic activities of green tea catechins and (−)epigalocatechin gallate., *Thromb. Res.*, 96, 229-37 (1999).
17. Balin, A.K.: Testing the free radical theory of aging. In: R.C. Adelman and G.S. Roth, eds., Testing the theories of Aging. CRC Press, Boca Raton, Fla., p37 (1982).
18. McCord, J.M.: The superoxide free radical: Its biochemistry and pathophysiology., *Surgery*, **94**, 412-4 (1983).
19. Halliwell and Barry: Reactive oxygen species in living system., *Am. J. Medicine*, **91**, 14-23 (1991).
20. Harman. D.: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, **11**, 298-307 (1956).
21. Nakachhi. K., Suga. K.: Preventive effects dringking green tea on cardiovascular disease and cancer. Proceddings of the 3rd International Symposium on Green Tea, Seoul, 13-20 (1995).
22. Katiyar, S.K., Agarwal, Z.Y., Mukhtar. H.: (−)-Epigallocatechin-3-gallate in Camellia sinensis leaves from Himalayan region of sikkim: Inhibitory effects of against biochemical events and tumor inhibition in sencar mouse skin, *Nutr. Cancer*, **18**, 73-83 (1992).
23. Agarwal, Z.Y., Mukhtar, H.: Enhancement of antioxidant and phase II enzymes by oral feeding of green tea polyphenols in drinking water to SKH-1 hairless mice: Possible role in cancer chemoprevention, *Cancer Res.*, **52**, 4050-2 (1992).
24. Hasegawa, R., Chujo, T.: Preventive effect green tea against liver oxidative DNA damage and hepatotoxicity in rats treated with 2-nitropropane. *Fd. Chem. Toxic.*, **33**, 961-970 (1995).
25. Chung, H.Y., Yokozawa, T.: Studies on antioxidative and antimutagenic of epicatechin 3-O-gallate isolated from green tea. Proceeding of the 3rd International Symposium on green tea, Seoul, 13-20 (1995).
26. Fridovich, I. and McCord, J.M.: The reduction of cytochrome c by milk xanthine oxidase., *J. Biol. Chem.*, **243**, 5753-60, (1968).
27. Nose, M. and Fujino, N.: Antioxidative activities of some vegetable foods and active component of *avocado epicarp.*, *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **29**, 507-13 (1982).
28. Ohnishi, S.T. and Barr, J.K.: A simplified method of quantitating proteins using the biuret and phenol reagent., *Anal Biochem.*, **86**, 193-200 (1978).
29. Wong, S.F. and Halliwell.: The role of superoxide and hydroxyl radicals in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid., *J. Inorg. Biochem.*, **14**, 127-34 (1981).
30. Esterbauer, H., Lang, J., Zadravec, S. and Slater, T.F.O. *Methods in enzymology*, Academic Press, New York, 150, 319 (1981).
31. Luck, H.: Catalase., In: *Methods of Enzymatic Analysis* (Ed. Bergmeyer HU), Academic Press, New York, p885 (1971).
32. Schonbaum, G. R. and Chance, B., Catalase, Boyer, P., Ed., Acacemic Press, New York, 363 (1976).

33. Fridovich, I.: Superoxide radicals, superoxide dismutase and the aerobic lifecycle, *Photochem. Photobiol.*, **28**, 733-41 (1978).
34. Parker, L.: Oxygen radicals in biological systems, *Methods in Enzymology.* Academmic press, New York **105** (1978).
35. Bulkey, G.B.: The role of oxygen free radicals in human disease processes, *Surgery*, **94**, 407-411 (1993).
36. Nohl, H., Jordan, W.: The mitochondrial site of superoxide formation, *Biochem, Biophy. Res. Commun.*, **138**, 533-9 (1986).
37. Minto, G., Aust, S.D.: Redox cycling of iron and lipid peroxidation, *Lipid.*, **27**, 219-226 (1993).
38. Hertzberg. R.P., Drevan, P.B.: Cleavage of DNA with methidiumpropyl-EDTA-iron(II): reaction condition and product analysis, *Biochem.*, **23**, 3934-45 (1984).
39. Moody, C.S. and Hassan, H.M.: Mutagenecity of oxygen free radicals. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 2855-2859 (1982).
40. Junqueira, V.B.C., Simiz, K., Videla, L.A. and Barros, S.B.: Dose dependent study of the effects of acute lindance administration on rat liver superoxide anionproductin, antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation, *Toxicology*, **41**, 193-204 (1996).
41. Wendel, A. and Feuerstein, S.: Drug-induced lipid peroxidation in mice-1. Modulation by monooxygenase activity, glutathione and selenium status. *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 2513-2530, (1981).