

Superoxide Dismutase 유사활성을 지닌 식물체가 Oxidative Stress를 받고 있는 초파리의 수명에 미치는 영향

한대석 · 광재혁* · 김상희 · 김석중
한국식품개발연구원, *(주)오투기 중앙연구소

Effect of Plant Extracts with Superoxide Dismutase-like Activity on Survival of Fruit Flies under Oxidative Stress

Daeseok Han, Jae-Hyock Kwak*, Sang Hee Kim and Seok Joong Kim
Korea Food Research Institute, *Ottogi Food Co. Ltd., Research Institute

Abstract

Biological effect of aqueous extracts of 12 plants which showed superoxide dismutase (SOD)-like activity *in vitro* was evaluated using *Drosophila melanogaster*. Survival percentage of the flies was a criterion of effect when the flies were exposed to paraquat, which generated superoxide anion radical *in vivo*. When flies were co-administered with paraquat and aqueous extracts of garlic, lettuce, kiwi, and nameko, they showed no defensive effect against oxygen toxicity. If flies were exposed to 60 mM paraquat after adaptation to feed containing plant extracts with SOD-like activity for 10 days, however, survival percentage of flies fed with phytochemicals was 35~63%, while that percentage of flies fed without phytochemical was only 11%. This result indicated that adaptation of flies to plant extracts with SOD-like activity could prevent the flies from oxidative injury. On the other hand, lettuce, kiwi, nameko, onion, persimmon, fern brake and cauliflower showed a reparative effect on an oxidative stress. Dropwort, shiitake, agaric mushroom and broccoli did not show such an effect.

Key words: plant, superoxide anion radical, *Drosophila melanogaster*, biological oxidation, reactive oxygen species

서 론

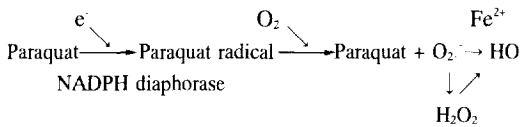
산소는 질량을 기준으로 볼 때 대기의 23%를 차지하는 성분으로 생명체의 호흡과정에서 최종적으로 전자수용체 역할을 해 생명현상을 유지시켜 주지만, 흡입된 산소의 일부는 정상적인 호흡과정과는 별도로 4전자환원과정(4-electron reduction process)을 거쳐 결국은 물이 되는데 전자를 하나씩 받음에 따라 각각 소위 활성산소종(reactive oxygen species)이라고 하는 superoxide anion radical (O_2^-), 과산화수소 (H_2O_2), hydroxyl radical ($HO\cdot$)이 된다 (Fig. 1). 라디칼은 모두 반응성이 큰 물질로 체내의 DNA, RNA, 단백질, 지방질 등과 반응하여 각종 염증, 암, 생체의 노화 등을 유발하고 결국은 생명체를 죽음에 이르게 하는 것으로 알려져 있다⁽¹⁻³⁾. 즉, 산소는 호흡을 하는 생명체의 생

명현상 유지에 필수불가결한 물질이기도 하지만 한편으로는 생체의 노화와 죽음을 유발하는 양면성을 지니고 있다.

활성산소의 유해성에 대하여 생체에는 superoxide dismutase (SOD), catalase, 각종 peroxidase 등이 있어 각 활성산소종을 안정한 물질로 전환시켜 산소상해에 대한 방어기능을 한다고 알려져 있다^(4,5). 결국 활성산소의 유해성은 활성산소의 반응성과 생체의 방어체계에 불균형이 있을 때 나타난다고 할 수 있다. 노약자나 환자를 비롯하여 인체의 방어체계가 약화된 경우에는 활성산소의 영향력은 상대적으로 더욱 커지게 되지만 체내에서 상기한 효소류의 생합성을 증대시킬 수 있는 방법이 없기 때문에 인체의 대응능력에는 한계가 있다. 이런 문제의 해결을 위하여 최근에는 식품분야에서 효소는 아니지만 활성산소의 반응성을 감소 또는 무력화할 수 있는 물질의 발굴과 이용에 관한 연구가 커다란 관심의 대상이 되고 있다^(6,7). 이들의 공통점은 주로 체내에서 작용하는 산화방지제의 섭취를

Corresponding author: Daeseok Han, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam, Kyunggi 463-420, Korea

었다. 이 결과는 Pq가 초파리에 명백히 독성을 나타내고 있음을 보여준다고 하겠다. Pq는 생체 내에서 NADPH-diaphorase에 의해 Pq 라디칼이 되고 이는 다시 산소와 반응하면서 superoxide anion radical을 발생시킨다고 알려져 있다⁽⁶⁾. Superoxide anion radical은 그 자체로는 그리 유해하지 않다고 알려져 있으나 이는 곧바로 H_2O_2 와 $HO\cdot$ 같은 활성산소로 전환되므로 이들이 초파리에 독성을 미친 것 같다. 초파리에도 SOD와 catalase 등 활성산소에 대한 방어체계가 있으나 이들의 방어능력 이상의 활성산소가 발생하여 초파리가 죽게 되었다고 판단되었다.



Sucrose 용액을 배지로 사용하였을 때에는 Pq 농도가 35 mM일 때 1일만에 모든 초파리가 사망하였던 결과로 미루어 볼 때 본 배지는 초파리의 oxidative stress에 대한 저항력을 크게 향상시키는 것으로 나타났다. 따라서 이는 SOD 유사활성 물질 외에도 다른 여러 영양성분을 공급할 수 있는 농산물 추출액의 효과를 분석하기에 적절한 배지로 평가할 수 있었다.

SOD 유사활성이 있는 농산물이 oxidative stress를 받고 있는 초파리의 수명에 미치는 영향

SOD 유사활성이 높았던 마늘 등 12 종의 농산물과 버섯 중에서 우선 마늘, 상치, 키위, 팽이버섯을 대상으로 이들이 oxidative stress를 받고 있는 초파리의 수

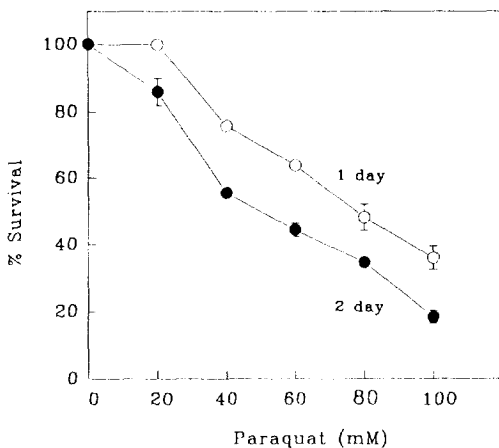


Fig. 2. Paraquat sensitivity in *Drosophila* Two-day-old flies (20-40/vial) were starved for 2 hr, and then transferred into vials containing paraquat

명에 미치는 영향을 조사하였다. 성충이 된지 4일이 지난 초파리 20~40마리를 한 실험구로 하여 instant media에 60 mM의 Pq 또는 농산물 추출물 50 mg을 동시에 첨가하고 1일과 2일 후에 생존율을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 이 결과에서 농산물 추출물과 Pq를 함께 첨가한 실험구의 초파리와 Pq만을 첨가한 초파리의 생존율이 2일 후에 모두 약 40% 내외로 거의

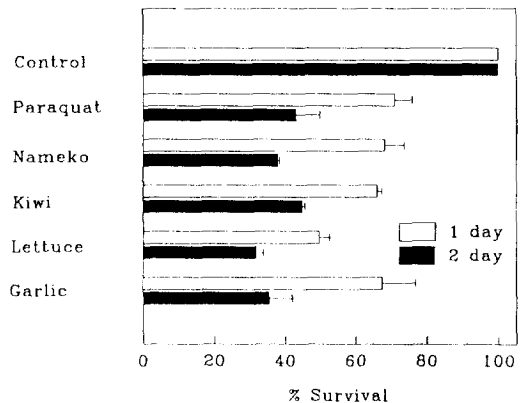


Fig. 3. Effect of co-administration of paraquat and plant extracts with SOD-like activity on the survival of *Drosophila* Four-day-old flies (20-40/vial) starved for 2 hr were transferred into instant medium containing 60 mM paraquat and 50 mg aqueous extracts from each agricultural produce; Control is the group fed instant medium and Paraquat means the group fed medium containing paraquat only; Percentage survival was counted after 1 and 2 days

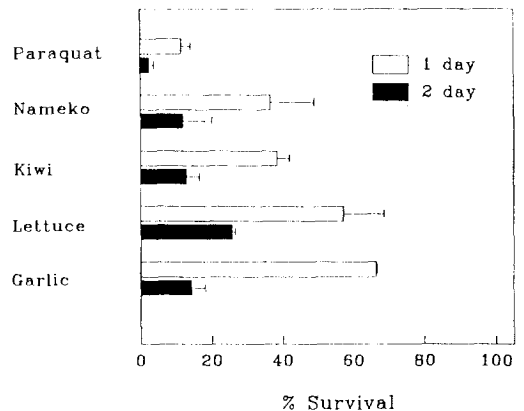


Fig. 4. Preventive effect of plant extracts with SOD-like activity on the paraquat toxicity Four-day-old flies (40-60/vial) were fed instant medium containing 50 mg extracts of each plant for 10 days, and then they were exposed to 60 mM paraquat; Paraquat means the group fed medium containing paraquat only

차이가 없었다. 따라서 SOD 유사활성을 지닌 농산물은 oxidative stress를 받기 시작하는 시점에서 공급하면 산소상해에 대한 초파리의 저항성에 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

이번에는 instant media에 각 식물체 추출액 50 mg을 첨가한 배지에 성충이 된지 4일 된 초파리 40~60마리를 한 실험구로 하여 10일간 배양하면서 각 식물체가 함유된 배지에 적응(adaptation)시킨 후, Pq가 60 mM이 함유된 배지로 옮겨서 1일과 2일 동안 다시 배양한 후에 초파리의 생존율을 측정하였다(Fig. 4). 배양 1일 후 Pq만 첨가한 실험구 초파리의 생존율은 약 11%였으나 식물체 추출물에 적응시킨 초파리의 생존율은 35~63%로 높게 나타났다. 즉, 초파리를 SOD 유사활성이 있는 식물체로 미리 적응시키면 이들은 초파리가 활성산소에 노출되더라도 산소독성에 예방효과를 나타낼 수 있음을 시사하고 있다.

Fig. 2에서 Pq 농도가 60 mM일 때 초파리의 생존율보다 Fig. 4에서 같은 농도의 Pq 수준에서 생존율이 낮아진 것은 Fig. 2에서의 초파리는 성충이 된지 2일째의 시료였으나 Fig. 4에서는 적응기간을 포함하여 성충이 된지 14일이 지난 초파리를 사용하였기 때문으로 생각된다. 이는 초파리의 연령에 따라 산소상해의 독성이 다르게 나타날 수 있음을 의미한다. 실제로 사람의 경우에는 활성산소에 대한 방어체제로 존재한다는 SOD 함량이 유년기 보다 성년이나 장년층에서 낮아지는 경향이 보고된 바 있다⁽¹⁷⁾.

산소상해를 받은 초파리에 대한 SOD 유사활성이 있는 식물체의 치유효과

성충이 된지 4일째의 초파리를 20 mM의 Pq가 함유된 배지에서 2일간 배양하여 산소상해를 유발한 후 산소상해를 받았지만 아직 생존해 있는 초파리만을 모아 60 mM의 Pq가 함유된 배지로 옮기고 일부 처리구에는 식물체 추출물 50 mg을 함께 공급하였다. 이후 2일간 배양하고 생존율을 측정한 결과는 Fig. 5와 같다. 우선 식물체 무첨가구 초파리의 생존율은 32%로 나타났으나, 마늘, 상치, 키위, 팽이버섯 첨가구 초파리의 생존율은 품종에 따라 다르기는 하지만 64~82%로 생존율이 높게 유지되었다. SOD 유사활성을 지닌 식물체를 oxidative stress를 받기 시작하는 시점에서 공급하면 이들이 산소상해에 대해 방어 효과를 나타내지 못했던 점으로 미루어 볼 때(Fig. 3) 이번 결과는(Fig. 5) 이들 식물체가 일종의 치유효과를 나타내기 때문에 생존율이 높게 유지된 것으로 생각되었다.

한편, SOD 유사활성이 높았던 여타 8종의 식물체

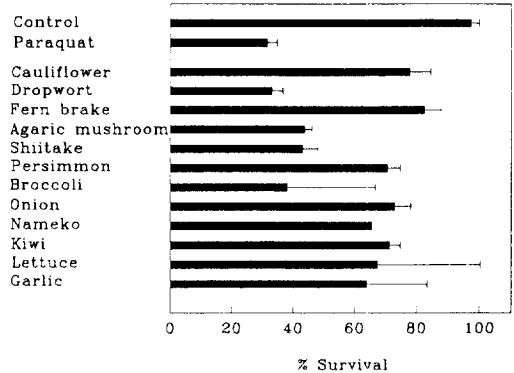


Fig. 5. Reparative effect of plant extracts with SOD-like activity on the paraquat toxicity Survivals of four-day-old flies (40-60/vial) fed instant medium containing 20 mM paraquat for 2 days were transferred into vials containing 60 mM paraquat and 50 mg extracts of each plant; Paraquat means the group fed medium containing paraquat only

추출물을 대상으로 산소상해에 대한 치유효과를 분석한 결과 Fig. 5에 나타난 대로 양파, 감, 고사리, 콜리플라워는 명백한 치유효과를 지닌 것으로 판단되었다. 그러나, 미나리, 표고버섯, 느타리버섯, 브로콜리 등 4종의 식물체는 효능이 없어 보였다. 이상의 결과와 같이 *in vitro* 실험에서 SOD 유사활성이 있다고 평가되었다고 하더라도 *in vivo*에서는 그 효능이 나타나지 않는 경우가 있음을 알 수 있다. 예를 들면 *in vitro* 실험에서 콜리플라워와 미나리의 SOD 유사활성은 각각 29%와 33%로서 비슷하지만⁽¹²⁾, 초파리를 이용한 *in vivo* 실험에서 콜리플라워 추출물을 먹인 경우의 생존율은 78% 정도였으나 미나리의 경우는 33% 정도로 효과가 없었다. 결국, 초파리라는 생체를 이용한 SOD 유사활성이 있는 농산물의 효능평가 방법은 변별력이 있기 때문에 궁극적으로 사람을 대상으로한 임상실험을 할 경우 대상 식물체의 선정범위를 좁혀가는 과정으로 적합한 방법이라고 판단되었다.

요 약

초파리를 이용하여 superoxide dismutase (SOD) 유사활성이 높다고 알려진 식물체 12 종의 효능을 평가하였다. 평가방법으로는 초파리 체내에서 superoxide를 발생시켜 초파리를 죽게 하는 paraquat (Pq)를 초파리 식이에 공급하고 상기 식물체 추출물을 투여하였을 때 초파리의 배양시간에 따른 생존율을 비교하여 분석하였다. Pq와 함께 마늘, 상치, 키위, 팽이버섯 추

출물을 동시에 공급하였을 때 이들은 산소상해를 받고 있는 초파리에 비서효과를 나타내지 못하였다. 그러나, 이들 식물체를 함유한 배지에 10일간 미리 적응시킨 후 식물체를 계속 공급하면서 60 mM 농도로 Pq를 함께 공급하였을 때 배양 1일 후 Pq 처리구의 생존율은 약 11%였으나 식물체 첨가구의 생존율은 35~63%로 높게 나타났다. 즉, 미리 적응시키면 SOD 유사활성이 있는 식물체는 초파리가 활성산소에 노출되더라도 산소독성에 예방효과를 나타낼 수 있음을 시사하고 있다. 한편, 초파리를 20 mM의 Pq가 첨가된 배지에 노출시켜 산소상해를 입히고 생존한 초파리만을 모아 60 mM의 Pq와 식물체 추출물이 함께 첨가된 배지로 옮기고 2일 후 생존율을 측정하였을 때 Pq 첨가구 초파리의 생존율은 32%였으나 상치, 키위, 팽이버섯, 양파, 감, 고사리, 팔리플라워 첨가구 초파리의 생존율은 64~82%로 나타났다. 결과적으로 이들 식물체는 산소상해에 대하여 일종의 치유효과를 나타내는 것으로 판단되었다. 조사한 식물체 중 미나리, 표고버섯, 느타리버섯, 브로콜리는 치유효과를 발휘하지 못하였다.

문 헌

- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.*, **219**, 1 (1984)
- Brawn, K. and Fridovich, I.: Superoxide radical and superoxide dismutase: Threat and defence. In *Autoxidation in Food and Biological Systems*, Simic M.G. and Karel M. (Ed.), Plenum Press, NY & London, p.429 (1980)
- 大柳善彦: 活性酸素と病氣, 化學同人 發行, 京都, p.101 (1991)
- Pryor, W.A.: Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Annu. Rev. Physiol.*, **48**, 657 (1986)
- Saul, R.L., Gee, P., and Ames, B.N.: Free radicals, DNA damage, and aging. In *Modern Biological Theories of Aging*, Warner, H.R., Butler, R.N. Sprott, R.L. and Schneider, E.L. (Ed.), Raven Press, NY, USA, p.113 (1987)
- Akaike, T., Ijiri, S., Sato, K., Katsuki, T. and Maeda, H.: Determination of peroxy radical-scavenging activity in food by using bactericidal action of alkyl peroxy radical. *J. Agr. Food Chem.*, **43**, 1864 (1995)
- Warner, H.R.: Overview: Mechanisms of antioxidant action on life span. *Toxicol. Ind. Health*, **9**, 151 (1993)
- Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S. and Aruoma, O. I.: Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: What they do and how they work. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, **35**(1&2), 7 (1995)
- Thomas, M.J.: The role of free radicals and antioxidants: How do we know that they are working?. *CRC Rev. Food Sci. Nutr.*, **35**(1&2), 21 (1995)
- Ramarathnam, N., Osawa, T., Ochi, H. and Kawakishi, S.: The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trend Food Sci. Technol.*, **6**(3), 75 (1995)
- Niwa, Y.: Investigation on the drug delivery system (DDS) in natural medicinal or health products-clinical effectiveness and inhibitory effect on lipid peroxidation of SOD-like health products and cancer retardant effect of natural product, BG-104. *Pharm. Tech. Japan*, **3**, 1067 (1987)
- Kim, S.J., Han, D., Park, M.H. and Rhee, J.S.: Screening for superoxide dismutase-like compounds and its activators in extracts of fruits and vegetables. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 2263 (1994)
- Kim, S.J., Han, D., Moon, K.D. and Rhee, J.S.: Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 822 (1995)
- Arking, R., Buck, S., Berrios, A., Dwyer, S. and Baker III, G.T.: Elevated paraquat resistance can be used as a bioassay for longevity in a genetically based long-lived strain of *Drosophila*. *Dev. Genet.*, **12**, 362 (1991)
- 한대석, 김석중: 국산 과채류의 수요확대를 위한 다양한 가공제품의 개발(3차년도). 한국식품개발연구원 보고서, E1271-0519 (1994)
- 森明充興: 活性酸素に對する防禦系. 放射線科學, **30**(10), 251 (1987)
- He, P., Yamaoka-Koseki, S. and Yasumoto, K.: Age-related changes in glutathione concentration, glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, and superoxide dismutase in senescence accelerated mice. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **58**, 1037 (1994)

(1996년 3월 14일 접수)