

▶ 특별강연-III

항산화 및 항암 기능성식품 소재로서의 procyanidins

정 우 식

인제대학교 식품생명과학부 교수

서 론

천연 식물자원에 널리 존재하는 폴리페놀 화합물(polyphenol compounds)은 질병의 예방 또는 치유효과와 같은 잠재적인 건강증진기능으로 인해 가장 많이 연구되고 있는 화합물 군 중 하나이다. 천연 폴리페놀 화합물 중, 카테킨(catechins)과 프로시아니딘(procyanidins)이 다양한 생리활성으로 인해 최근 주목 받고 있으며, 이들 화합물은 심혈관계 질병 및 암과 같은 여러 만성질병에 대해 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 수많은 연구에도 불구하고 만성질병에 대한 이들 화합물의 생리활성을 이해하기 위한 분자수준의 작용기전(molecular mechanism)은 아직 충분히 밝혀지지 않고 있다.

카테킨화합물은 폴리페놀 화합물군 중 플라보노이드(flavonoids)에 속하며 그 하위 그룹인 플라바놀(flavanols) 또는 플라반-3-올(flavan-3-ols)로 분류된다. 카테킨 화합물 중에서 가장 다양하고 뛰어난 활성을 보이는 것들은 녹차에 존재하는 카테킨류 (tea catechins)이라 할 수 있는데, 녹차는 중국, 일본 및 한국 등 동북아시아 지역 나라에서 주로 섭취되어 왔다. 이들 나라에서 녹차의 섭취는 여러 가지 질병, 특히 암, 심혈관계 질환 및 백내장 등의 예방과 관련 되어 있는 것으로 알려져 있다. 한편, 프로시아니딘은 flavan-3-ol의 oligomer 및 polymer로서 포도씨, 적포도주, 소나무껍질에 다량으로 존재하는 것으로 알려져 있다. 프로시아니딘은 French Paradox의 발견으로 더욱 많은 관심을 얻게 된 천연 화합물이라 할 수 있다. 즉, 적포도주의 높은 섭취수

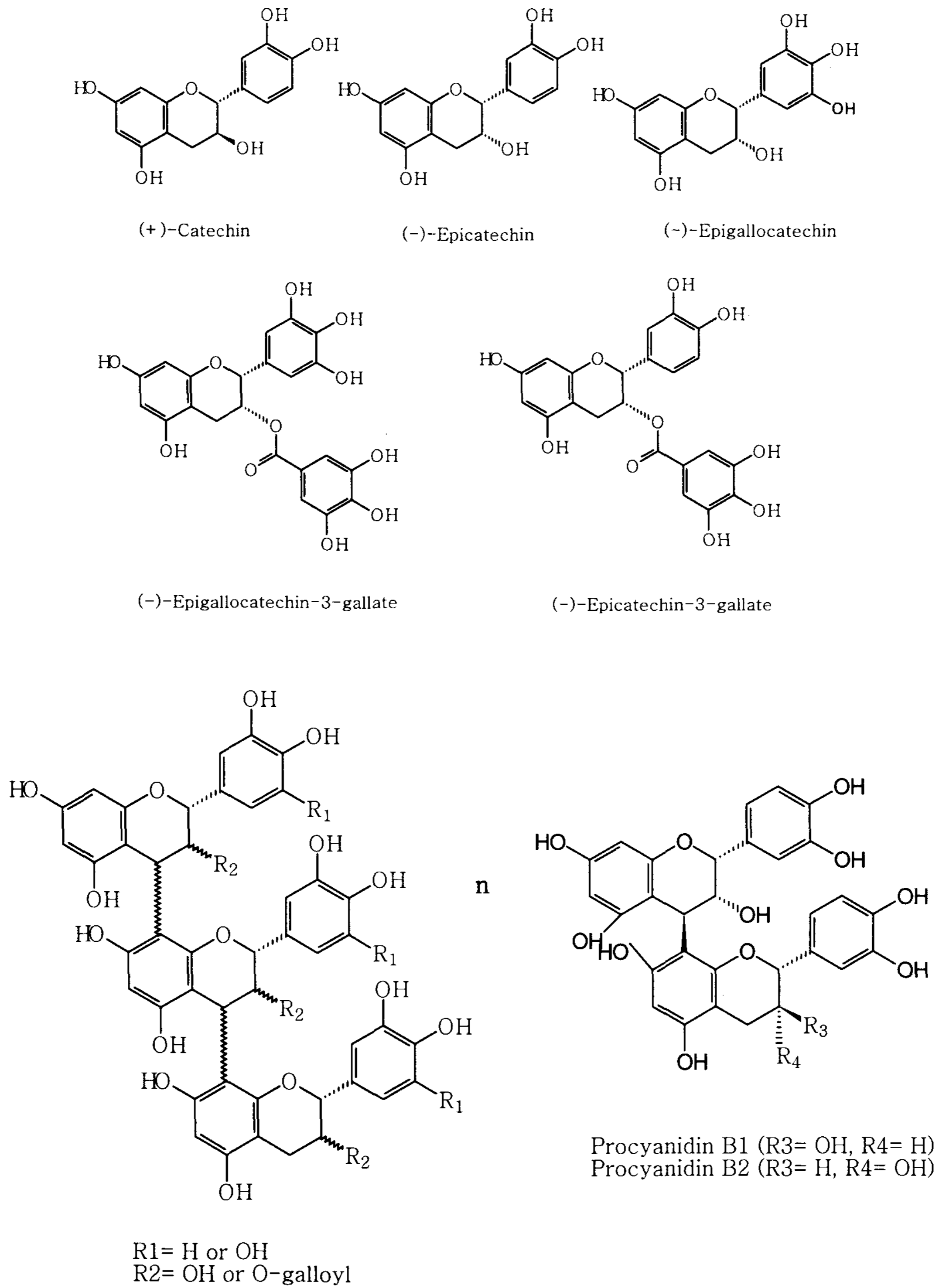
준이 프랑스 지방 사람들의 높은 지방섭취에도 불구하고 심장질환으로 인한 사망률이 낮은 이유에 대한 설명 중 하나로 인식되고 있는데, 적포도주에는 주요 구성성분으로서 다양한 형태의 프로시아니딘이 함유되어 있다.

구조적으로 연관되어 있는 이러한 카테킨 화합물들은 *in vitro* 뿐만 아니라 *in vivo* 연구에서도 그 다양한 생리활성이 증명되고 있어 수많은 세계 연구자들의 관심거리가 되었다. 따라서 본 발표에서는 카테킨의 polymer인 프로시아니딘 화합물을 중심으로 기본적인 화학적 성질과 구조에 따른 분류 그리고 지금까지 연구된 생리활성, 특히 항산화성 및 항암특성에 대해 토의하고자 한다.

카테킨과 프로시아니딘

앞서 언급되었듯이 카테킨은 flavan-3-ol의 단량체(monomer)로 분류되며 녹차나무(*Camellia sinensis*) 잎의 주요 플라보노이드로서 녹차 잎의 총 플라보노이드 중 60-80%를 구성하고 있다. 생녹차 잎에는 (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG) 및 (-)-epigallocatechin gallate (EGCG)이 주요 카테킨으로 존재하고(Figure 1), 그 외에 epigallocatechin digallate, epicatechin digallate, 3-O-methyl EC 및 EGC, catechin gallate, gallic acid, gallic acid gallate 등이 소량 함유되어 있다. 이 중 EGCG는 녹차 총 카테킨의 50-80%를 차지한다. 녹차 이외에도 카테킨 화합물은 사과, 배, 포도, 코코아 콩 등에 존재하나 EGCG는 녹차에만 존재하는 카테킨 화합물로 보고되고 있다.

프로시아니딘(procyanidins)은 프로안토시아니딘(proanthocyanidins)이라고도 불리는데, 이는 산성의 가열 조건에서 안토시아니딘(anthocyanidin)을 생성하기 때문에 붙여진 이름이다. 축합형 탄닌(condensed tannins)은 프로시아니딘의 또 다른 잘 알려진 분류명인데, 가수분해형의 hydrolyzable tannins과는 구별된다. 프로시아니딘은 앞서 언급되었듯이 flavan-3-ol의 oligomer 또는 polymer 인데 반해 hydrolyzable tannin은 페놀산(phenolic acids)과 polyol (주로 glucose)의 에스터(ester) 형태이다. 프로시아니딘은 hydrolyzable tannin 보다 훨씬 빈번하게 그리고 높은 수준으로 일상적인 식이(diet)에서 발견되며 더 다양한 생리활성으로 인해 광범위하게 연구되고 있는 화합물이다. 프로시아니딘은 식품자원을 포함한 다양한 식물계에 존재하며, 각종 과일, 채소, 견과류, 종자, 포도주, 차 및 나무껍질 (특히 소나무 껍질) 등에서 발견된다.



General structure of procyanidin polymer

Figure 1. Structures of tea catechins and procyanidins. Adapted from Jeong et al (2004)

프로시아니딘 dimer 및 polymer의 일반적인 구조가 figure 1에 소개되어 있다. 지금까지 알려진 중합도(polymerization degree) 5 이하의 프로시아니딘 oligomer는 200종이 넘으며 그 이상의 중합도를 가진 프로시아니딘도 천연에서 발견되고 있다. 프로시아니딘의 가장 흔한 flavan-3-ol unit은 (+)-catechin과 (-)-epicatechin으로 이들 단량체는 탄소-탄소(C-C)의 강한 interflavan 결합으로 연결되어 있는 것이 일반적이다. 프로시아니딘 oligomer 및 polymer의 경우 가장 아래쪽에 있는 unit을 terminal unit이라 하고 그 위에 있는 unit들을 extension unit이라 한다. 프로시아니딘의 결합은 주로 C4-C8 결합이 일반적이고 드물게 C4-C6결합도 발견되며 gallic acid가 결합된 경우도 있는데, C4-C8 및 C4-C6로 결합된 프로시아니딘 dimer를 B-type으로 trimer를 C-type으로 분류한다. 그러나 탄소-산소(C-O)의 결합을 가지는 프로시아니딘 구조도 천연에서 발견되는데 이들을 A-type 프로시아니딘으로 분류하고 있다. A-type 프로시아니딘은 모두 dimer이고 탄소-산소 결합은 상위 unit의 C2와 하위 unit의 C7에 결합된 산소와의 결합으로 연결되어 있는데, 이들 A-type 프로시아니딘은 크랜베리, 땅콩껍질, 리치(litchi) 등에서 발견된 바 있다.

항산화성

세포 또는 조직에서 프리라디칼(free radicals)에 의한 손상은 심혈관계 및 염증관련 질병, 암과 같은 만성질병과 노화(aging)의 원인 중 하나로 인식되고 있다. 프리라디칼 또는 활성산소종(reactive oxygen speices, ROS)은 핵산, 지질, 단백질과 같은 세포와 조직에 필수적인 생체분자들을 화학적으로 변화시켜 이들의 구조와 기능을 변화시킬 수 있으며 결과적으로 프리라디칼 또는 활성산소종에 의한 이러한 생체분자들의 변화는 노화 및 여러 만성질병이 전개되는 작용기전으로 설명되기도 한다.

대부분의 다른 폴리페놀 화합물들과 마찬가지로 카테킨류 화합물과 프로시아니딘 화합물은 항산화 활성을 지니고 있으며 이는 심혈관계 질병에 대한 이들 화합물의 생리활성을 어느 정도 설명하는 근거가 될 수 있을 것이다. 카테킨류 화합물과 프로시아니딘은 DPPH radical, singlet oxygen (1O_2), superoxide anion radical ($O_2^{\bullet-}$), hydroxy radical (HO^{\bullet}), nitric oxide radical (NO^{\bullet}), alkyl peroxy radical 등 다양한 종류의 프리라디칼에 대해 우수한 항산화성이 있는 것으로 보고되어 왔다.

녹차의 4가지 주요 카테킨에 대한 지질 과산화실험에서 ECG와 EGCG가 EC 및 EGC에 비해

우수한 항산화성이 있는 것으로 나타났는데, 이러한 결과로 미루어 보아 galloyl moiety가 녹차 카테킨의 항산화력에 중요한 역할을 하는 것으로 짐작된다. 또한 B-ring의 3', 4', 5'-trihydroxyl 기는 3', 4'-dihydroxyl 기에 비해 superoxide anion radical 소거에 더 효과적이며, 여기에 C-ring의 galloyl moiety가 추가될 때 시너지 효과가 있는 것으로 보고되었다. 그러나 녹차의 섭취가 in vivo 혈장 항산화성에 미치는 영향에 대해서는 상반된 연구결과들이 있어 아직 논란의 여지가 있다고 할 수 있는데, 이는 섭취하는 녹차의 제조 및 섭취방법, 생체이용성(bioavailability), 흡수의 문제, 연구대상 집단의 상이성 등에 기인한 것으로 사료된다.

프로시아니딘의 항산화성에 대한 연구들도 다양한데, French Paradox의 발견 이후로 포도 (*Vitis vinifera*)씨로부터 추출한 프로시아니딘이 가장 광범위하게 연구되어 왔다. 포도씨 유래 프로시아니딘은 superoxide anion radical 및 지질 과산화의 저해, 모든 단계의 지질 과산화 과정에서 conjugated dienes의 생성 저해 등이 보고 된 바 있다. 수수(Sorghum)에서 분리된 프로시아니딘 polymer(16개의 epicatechin extension units과 1개의 catechin terminal unit으로 구성)의 경우 peroxy radical에 대한 항산화성이 simple monomeric 페놀화합물과 Trolox (수용성 vitamin E analog)에 비해 15 - 30배 이상 우수한 것으로 나타났다. 따라서 카테킨의 중합도가 항산화력에 영향을 미칠 수 있는 것으로 추정된다. 프로시아니딘의 항산화성이 갖는 또 다른 특성은 pro-oxidant 활성이 거의 없다는 것인데, 사실 많은 항산화성 페놀화합물들이 pro-oxidant로서도 작용할 수 있다고 알려져 있다. 그러나 어떤 물질의 항산화력은 측정되는 실험계에 따라 그 결과가 상이할 수 있다는 점에 주목할 필요가 있다. 실제로 DPPH assay와 같은 극성의 실험계에서는 ascorbic acid와 같은 수용성 항산화제들의 항산화 활성이 높은 것으로 측정되지만 지용성의 Vitamin E 또는 BHT, BHA와 같은 물질들은 상대적으로 낮은 항산화성을 갖는 것으로 나타난다. Plumb 등(1998)은 지용성의 실험계에서 카테킨화합물들의 항산화성이 중합도와 비례하여 감소하고 수용성계에서는 trimer까지는 중합도에 비례하여 항산화성이 증가하고 tetramer는 감소한 것으로 보고한 바 있다.

메밀(buckwheat)에서 분리된 procyanidin B2는 superoxide anion radical 및 hydrogen peroxide의 저해실험에서 EC와 rutin 보다 활성이 뛰어난 것으로 보고되었다. 또한 홉(hop)의 여러 oligomeric procyanidins의 경우 신경세포의 nitric oxide synthase(NOS) 활성을 강하게 저해하는 것으로 나타났는데, 이중 procyanidin B2의 활성이 가장 뛰어났으며, procyanidin B3, EC 및 catechin은 활성이 없는 것으로 나타났다. 그러나 LDL 산화 억제에 있어서는 procyanidin B3가 가장 효과적으로 보고되었다.

Procyanidins의 생체흡수율 또는 생체이용성(bioavailability)은 여전히 논란거리로 남아 있지만 많은 연구자들이 procyanidins의 in vivo 항산화활성을 보고하고 있다. 흰쥐를 이용한 경구투여 실험에서 포도씨 유래 polymeric procyanidins이 혈장 항산화활성을 증가시켰으며, 또 다른 쥐 실험에서는 포도씨 procyanidins의 투여가 TPA로 유도된 간 및 뇌 조직의 산화 및 DNA fragmentation을 농도의존적으로 저해했을 뿐만 아니라 그 저해활성이 비교실험한 vitamin C, vitamin E 및 beta-carotene 보다 유의적으로 우수한 것으로 보고된 바 있다. 인간을 대상으로 한 연구결과도 있는데 상업적으로 판매되고 있는 포도씨 procyanidin 추출물 (제품명 Leucoselect Phytosome, 300mg procyanidin 함유)을 2 캡슐씩 5일간 투여했을 때 혈청의 총 항산화력(serum total antioxidant capacity)이 증가한 것으로 나타났다.

항암활성

암(cancer)은 한국인의 사망원인 1위일 뿐만 아니라 선진국에서도 주된 사망원인 중 하나이다. 암의 발생과 암발생에 대한 분자수준에서의 작용기전은 지난 수십 년간 수많은 연구자들에 의해 큰 진전이 있었다고 할 수 있다. 그러나 이에 비해 암의 발생(carcinogenesis) 또는 발달(cancer development)을 예방하거나 저해하기 위한 효과적인 전략 또는 그 작용기전에 대한 연구는 현재로서는 훨씬 뒤쳐져 있는 것이 사실이다. 발암이 전개되는 과정은 보통 수십 년에 걸쳐서 일어나는 다단계의 과정으로, 일반적으로 initiation, promotion, progression의 세 가지 단계로 나뉜다. 암발생의 각 단계는 여러 가지 천연화합물 및 합성화합물에 의해 차단 또는 억제될 수 있는데 이를 chemoprevention이라 부르며 이러한 활성을 가지는 화합물들을 chemopreventive agents라 한다. 최근 식품 또는 식물자원에 존재하는 생리활성물질, 즉 phytochemicals 중에서 잠재적으로 항암활성을 지닌 여러 화합물들이 주목받고 있다. 식품 또는 식용식물에 존재하는 phytochemicals은 상대적으로 낮은 독성과 비용, 그리고 접근성 등의 장점이 있어 천연 항암물질 연구가 그 어느 때보다도 활발히 진행되고 있다. 그러나 지금까지 대부분의 천연 항암물질에 대한 연구는 단지 암세포의 증식을 억제하거나 항암과 관련한 일부 분자지표(molecular markers)에 대한 영향 등에 국한되어 있는 실정으로 상위신호전달경로(upstream signal transduction pathways), in vivo에서의 작용기전 등 molecular mechanism에 대한 보다 체계적이고 심도 있는 연구가 필요하다고 하겠다.

카테킨 화합물, 특히 녹차 카테킨 화합물의 항암활성 및 작용기전에 관한 연구는 상대적으로 풍부하며, 세포수준의 연구뿐만 아니라 여러 동물모델을 이용한 표적장기에 대한 연구까지 광범위하게 진행되어 왔다. 그러나 프로시아니딘이 갖는 암의 예방 또는 치유에 있어서의 역할이나 작용기전에 관한 정보는 현재로서는 상대적으로 부족하며 *in vivo* 수준의 연구는 제한적이라 할 수 있다. 더구나 항암기작의 측면에서 프로시아니딘이 관련 세포신호전달경로(*cellular signal transduction pathways*)에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 필요한 실정이다.

천연물의 항암기전은 크게 두 가지로 분류할 수 있는데 하나는 암의 *initiation* 단계를 차단하는 예방(*prevention*) 기전과 다른 하나는 이미 생성된 암세포의 증식을 억제하거나 세포자살(*apoptosis*)을 유도하는 치유(*therapy*)의 기전이다. 전자인 암의 예방과 관련한 신호전달경로로는 발암원(*carcinogens*)으로부터 세포나 조직을 보호할 수 있는 세포방어기전의 활성화를 들 수 있는데, 이러한 세포방어기전의 활성화는 *glutathione-S-transferase*(*GST*), *NAD(P)H quinone oxidoreductase 1*(*NQO1*) 및 *heme oxygenase 1*(*HO-1*) 등과 같은 제2상 해독효소(*phase 2 detoxifying enzymes*)나 항산화효소(*antioxidant enzymes*)의 활성화 또는 발현유도에 의해 성취될 수 있다. 세포방어와 관련한 이들 효소 유전자의 프로모터 영역(*promotor region*)에는 *antioxidant response element*(*ARE*)가 자리하고 있으며 여기에 결합하여 이들 유전자의 발현을 유도하는 전사인자(*nuclear factor*)인 *nuclear factor E2-related factor 2*(*Nrf2*)의 활성화가 중요한 역할을 담당한다. 식품 또는 식용자원으로부터 얻을 수 있는 가장 효과적인 항암의 방법은 바로 이러한 암발생의 *initiation* 단계를 차단하는 것이라 할 수 있다.

프로시아니딘이 이러한 세포방어관련 기전에 미치는 영향에 대해서는 지금까지 연구된 바가 전혀 없다. 본 발표에서는 몇 가지 식물에서 분리한 프로시아니딘을 이용하여 *Nrf2/ARE* 신호전달경로에 대한 조절기능을 토의하고자 한다.

프로시아니딘의 항암효과 중 후자의 항암기전, 즉 암세포의 증식을 억제하거나 세포자살을 유도하는 효과에 대해서는 최근에서야 비로소 연구결과들이 보고되기 시작하였다. 소나무껍질, 포도씨, 사과 등에서 추출한 프로시아니딘의 암세포증식 억제에 대한 연구결과는 다양한 종류의 암세포를 이용한 실험에서 확인되었다. 또한 암세포의 증식에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 전사인자들 중 *nuclear factor kappa B* (*NFkB*)와 *activator protein 1*(*AP-1*)에 대한 프로시아니딘이 조절작용이 최근 보고되었다. 프랑스 해안송 껍질에서 추출한 프로시아니딘 고함유 추출물인 *Pycnogenol*은 인간유래 피부세포에서 *NFkB*의 활성화 및 *DNA* 결합을 저해하고 *NFkB* 의존적인 유전자발현을 억제하는 것으로 보고된 바 있다. 또한 세포내 항산화물질인

glutathione(GSH)의 수준을 유지하고 UV조사로 유도된 세포독성을 경감시키는 효과도 보고되었다. 한편 쥐의 대식세포(macrophage)에서는 해안송 껍질 추출물이 NFκB의 활성화에 아무런 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다. 대식세포에서 카테킨 monomers와 dimeric-, trimeric 프로시아니딘이 NFκB에 대한 영향을 비교한 연구에서는 카테킨 monomers와 dimeric procyanidin B2는 interferon-gamma로 유도한 NFκB 의존성 유전자발현을 억제하였으나 trimeric 및 해안송껍질 추출물은 오히려 활성화 시키는 것이 발견되었다. 한편 인간유래 대장암세포인 HT-29 세포에서는 dimeric procyanidin B1 및 B2가 NFκB함유 유전자발현에 유의적인 영향을 미치지 못한 것으로 나타났다. 한편, 대장암세포주에서 dimeric procyanidin B1 및 B2는 AP-1활성화에 별 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났다.

프로시아니딘의 세포자살유도 효과는 여러 연구진들에 의해 비교적 연구가 활발하게 진행되고 있는데, 포도씨 프로시아니딘 추출물이 전립선암 세포의 증식을 억제하고 세포자살을 유도하는 것으로 보고되었으며 이러한 결과는 Elk1 인산화(phosphorylation) 및 AP-1 활성화를 억제함으로써 얻어지는 것으로 나타났다. 또한 프로시아니딘 고함유 포도씨 추출물은 JNK의 인산화 및 활성을 강하게 유도하는 것으로 보고되었다. 한편, 사과에서 추출한 프로시아니딘은 caspase-3를 활성화 시켜 세포자살을 유도하는 것이 최근 밝혀졌다.

결론

카테킨의 중합체인 프로시아니딘은 다양한 생리활성을 지니는 것으로 점차 보고되고 있으며 이중 항산화활성은 때로는 강력한 항산화제로 알려진 phenolic monomer들 보다 더 우수한 것으로도 보고되고 있고 수년전부터 보고되기 시작한 항암활성에 대해서는 조금씩 작용기전이 밝혀지고 있다. 그러나 이러한 생리활성은 프로시아니딘의 중합도에 따라 상이한 결과를 보이기도 하므로 다양한 중합도에 따른 생리활성이 연구되어야 할 것으로 사료된다. 더구나 프로시아니딘의 in vivo 상황에서의 역할은 여전히 논란이 되고 있고, 특히 프로시아니딘의 흡수, 분포, 대사 및 배출에 대한 정확한 이해가 없이는 이러한 논란을 해결할 수가 없을 것이다. 또한 암과 같은 만성질병은 한두 개의 신호전달경로가 아닌 여러 개의 신호전달경로가 얽혀있는 복잡한 체계이므로 프로시아니딘이 이들 개별 신호전달경로에 미치는 영향에 대해서도 충분한 연구가 필요하다 하겠다.

참고문헌

1. Jeong WS, Kong AN. Biological properties of monomeric and polymeric catechins: green tea catechins and procyanidins. *Pharmaceutical Biology*, 42(Supplement): 84-93 (2004)
2. Jeong WS, Jun M, Kong AN. A potential molecular target for cancer chemoprevention by natural compounds: Nrf2. *Antioxidants & Redox Signalings*, 8(1-2): 99-106 (2006)
3. Jeong WS, Kim IW, Hu R, Kong AN. Modulation of AP-1 by chemopreventive agents in human colon HT-29 cancer cell line. *Pharmaceutical Research*, 21(4): 649-660 (2004)
4. Jeong WS, Kim IW, Hu R, Kong AN. Modulatory properties of various natural chemopreventive agents on the activation of NF κ B signaling pathway. *Pharmaceutical Research*, 21(4): 661-670 (2004)
5. Plumb GW, De Pascual-Teresa S, Santos-Buelga C, Cheynier V, Williamson G. Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: effect of polymerisation, galloylation and glycosylation. *Free Radical Research*, 29: 351-358 (1998)