

## 글리세린산의 *in vitro* 항산화활성에 대한 실험적연구

한동술, 고성국, 리형관

위대한 수령 김일성동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《…사회주의의학에서 기본은 예방, 다시말하여 근로자들이 병에 걸리지 않도록 미리 대책을 세우는것입니다. 그러므로 사회주의의학은 곧 예방의학이라고 말할수 있습니다.》

(《김일성전집》 제37권 385페이지)

우리 나라 사회주의보건제도의 우월성을 높이 발양시키는데서 여러가지 항산화제들을 적극 개발리용하는것은 중요한 의의를 가진다.

글리세린산은 알콜과 알데히드대사를 촉진시키고 알콜로 인한 생체의 손상을 방지하는데서 최근에 주목되고있는 물질이다.[2-4]

우리는 알콜성간장애의 생화학적지표들을 검토하는 과정에 글리세린산이 생체내에서 알콜대사때 일련의 항산화활성을 나타낸다는것을 발견하였다.[1] 이것이 글리세린산이 세포 및 분자수준에서 나타내는 직접적인 작용인가 하는것은 아직 알수 없으며 지금까지 글리세린산의 항산화활성에 대하여 연구한 자료는 발표된것이 거의 없다.

이로부터 우리는 세포분자수준에서 글리세린산의 항산화활성을 검토하기 위한 몇가지 실험들을 진행하였다.

### 재료와 방법

재료로는 물질량이 130~180g되는 흰쥐를 리용하였다.

시약 글리세린산시약으로는 자체로 합성한 글리세린산칼시움염인  $(C_3H_5O_4)_2 \cdot Ca \cdot 2H_2O$  (순도 99%)를 리용하였다. 실험에서는 또한 사탕(식용), EDTA(분석순), 삼염화초산(TCA, 순), 호박산나트륨(순), HCl(분석순),  $FeCl_2$ (분석순), 과산화수소(분석순), 티오바르비투르산(TBA, 분석순), 리보플라빈(《Reanal》), 니트로청테트라졸리움(NBT, 분석순)을 리용하였으며 완충계로서는 린산완충계를 리용하였다.

사립체분리를 위한 기구 테플론균마기(《B. BRAUN》)와 랭동원심분리기(《KUBOTA》)를 리용하였다. 사립체의 분리에서 단백질측정, 티오바르비투르산반응물질(thiobarbituric acid reactive substance: TBARS)함량 및 수퍼옥시디스무타제(SOD)류사활성측정에서 자동기록분광광도계(《EPS-3T》)와 빛세기측정기(《JIHOKMETP IO116》), 자체로 준비한 표준광원을 리용하였다.

흰쥐간장사립체의 분리 흰쥐간장사립체는 원심분리법으로 분리하였다.

기름질과산화물의 측정과 평가방법 기름질의 과산화과정에 생성되는 TBARS함량은 TBA법으로 측정하였다. 이때 과산화반응계로서는  $Fe^{2+} - H_2O_2$ 계를 리용하였으며 과산화반응은  $37^\circ C$ 에서 30min동안 진행하였다. 과산화반응후에 15min동안 끓이고 인차 식힌 다음 원심분리하고  $\lambda = 535nm$ 에서 상청액의 흡광도를 측정하였다.

MDA상대함량은  $\Delta D_{535}$  값으로 평가하였다. 즉

$$\Delta D_{535} = D_{\text{손}} - D_{\text{정}}$$

이며 여기에서  $D_{\text{손}}$  은 과산화처리를 한 시료의 흡광도,  $D_{\text{정}}$  은 과산화처리를 하지 않은 시료의 흡광도이다.

해당 항산화제의 기름질과산화억제률  $R_{\text{억}}(\%)$ 은 다음과 같이 결정하였다.

$$R_{\text{억}} = \frac{\Delta D_0 - \Delta D}{\Delta D_0} \times 100$$

여기서  $\Delta D_0$  은 대조구에서의  $\Delta D_{535}$ ,  $\Delta D$  는 항산화제(여기서는 글리세린산)처리구에서의  $\Delta D_{535}$  이다.

SOD류사활성의 측정과 평가방법 SOD류사활성(수퍼 록시드라디칼소거능)측정은 NBT법으로 하였다. 빛세기는 50 000lx로, 반응시간은 5min으로 고정하였다.

대조구에는 시료용액대신 증류수를 넣었으며  $O_2^-$  소거률  $R_{\text{소}}(\%)$ 는 다음의 식에 의하여 계산하였다.

$$R_{\text{소}} = \frac{D_{\text{대}} - D_{\text{시}}}{D_{\text{대}}} \times 100$$

여기서  $D_{\text{대}}$  는  $\lambda = 560\text{nm}$  에서 대조구의 흡광도,  $D_{\text{시}}$  는  $\lambda = 560\text{nm}$  에서 시료구의 흡광도.

## 결과 및 논의

### 1) 흰쥐간사립체에서 기름질과산화에 대한 글리세린산의 항산화작용

우리는 예비적인 실험결과로부터 기름질과산화제에서  $H_2O_2$ 의 농도를 0.1mol/L로 고정하고 각이한 농도로 글리세린산을 첨가한 다음 흰쥐간사립체의 기름질과산화정도를 관찰하였다. 이때 반응계에서 사립체의 함량은 단백질농도로 1mg/mL로 하였다.

실험결과 글리세린산의 농도가 높아짐에 따라 사립체에서 기름질의 과산화정도는 뚜렷이 낮아졌으며 그것은 글리세린산의 농도에 거의 비례하였다.

$\lambda = 535\text{nm}$ 에서의 흡광도에 기초하여 글리세린산의 농도에 따르는 사립체의 기름질과산화억제률을 계산한 결과는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 글리세린산칼시움농도가 매우 낮을 때에도 기름질과산화를 상당히 억제하였으며 글리세린산칼시움농도가 2.4mmol/L정도이면 그 억제률은 거의 25%에 이르렀다.

글리세린산의 이러한 효과가 글리세린산이 과산화수소와 반응하여 그 농도를 낮추는것때문인지 아니면 과산화기름질생성의 어떤 중간단계에서 글리세린산이 과산화라디칼을 포획하기때문인가 하는것은 완전하게 결론할수 없다. 어쨌든 글리세린산이 임의의 요인들에 의한 생체막 기름질의 과산화를 방지하는데서 긍정적인 역할을 한다고 말할수 있다.

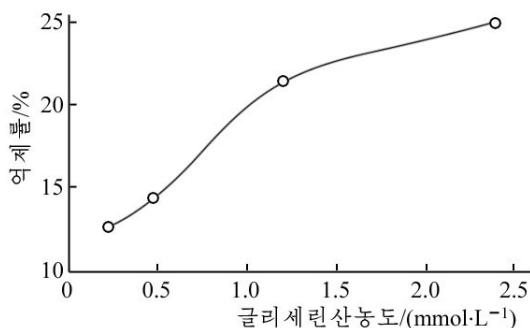


그림 1. 글리세린산의 농도에 따르는 사립체의 기름질과산화억제률의 변화

## 2) 수퍼옥시드라디칼소거에 미치는 글리세린산의 영향

리보플라빈농도에 따르는 수퍼옥시드라디칼의 발생 우리는 먼저 리보플라빈의 농도에 따르는  $O_2^-$  라디칼의 발생정도를 관찰하였다. 빛의 세기를 고정시키고 각이한 농도에서 리보플라빈을 첨가하고 빛조임하면서 NBT와 반응시킨 다음  $\lambda=560nm$ 에서 흡광도를 측정하였는데 그 결과는 그림 2와 같다.

그림 2에서 보는바와 같이 리보플라빈의 농도가 증가함에 따라  $O_2^-$  라디칼의 발생량은 많아졌는데 리보플라빈농도  $0.05\mu mol/L$ 부터는 그 변화가 그리 크지 않았다. 우리는  $O_2^-$  라디칼이 비교적 충분히 생성된다고 볼수 있는  $1\mu mol/L$ 를 선택하여 다음 실험을 진행하였다.

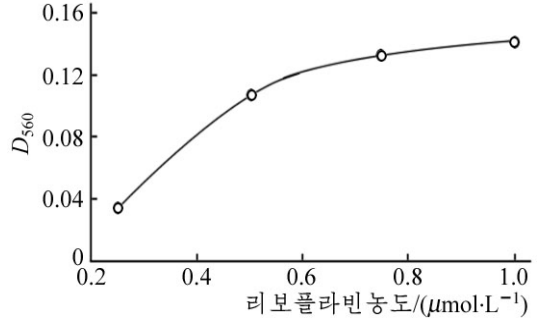


그림 2. 리보플라빈의 농도에 따르는  $O_2^-$  라디칼발생량의 변화(상대값)

글리세린산의  $O_2^-$  라디칼소거능 생체안에서  $O_2^-$  라디칼을 제거하는 기본물질은 수퍼옥시드디스무타제에 의한 효소적인 분해이지만  $O_2^-$  라디칼 그 자체가 강한 반응성을 가지므로 개별적인 물질들과 직접 반응하여 불활성화될 수 있다. 이때 반응하는 물질들이  $O_2^-$  라디칼을 얼마나 소모하는가 하는것이 그 물질의 수퍼옥시드디스무타제(SOD)류사활성이다.

$O_2^-$  라디칼발생반응계에 글리세린산을 각이한 량 첨가하고  $O_2^-$  라디칼발생정도를 관찰하였다. 측정된  $D_{560}$ 값에 기초하여 글리세린산의 SOD류사활성( $O_2^-$  라디칼소거률)을 평가하였는데 그 결과는 그림 3과 같다.

그림 3에서 보는바와 같이 글리세린산은  $O_2^-$  라디칼을 강하게 소거하며 그 정도는 글리세린산의 농도에 의존한다. 그림에서 보는것처럼  $3mmol/L$  농도에서는 실험에서 발생시킨  $O_2^-$  라디칼을 거의다 소거하였다. 이 실험으로부터 글리세린산이  $O_2^-$  라디칼을 직접 소거하는 작용이 있다는것을 알수 있지만 그 효과가 사립체가 있는 조건에서도 나타나는가 하는것은 검토해보아야 알수 있다.

사립체가 있는 조건에서 글리세린산의 SOD류사활성 사립체가 있는 조건(단백질농도로  $1mg/mL$ )에서  $O_2^-$  라디칼발생반응계에 글리세린산을 각이한 량으로 첨가하고  $O_2^-$  라디칼생성량을 측정한 다음 앞에서와 같이 소거률을 평가하였는데 그 결과는 그림 4와 같다.

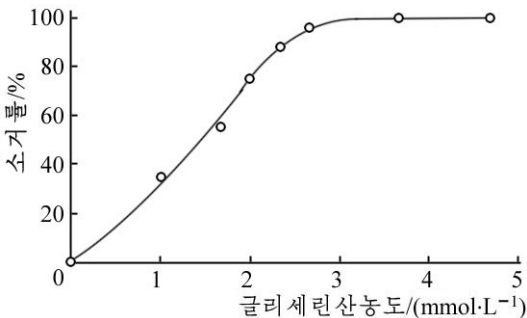


그림 3. 글리세린산의 농도에 따르는  $O_2^-$  라디칼소거률(%)의 변화

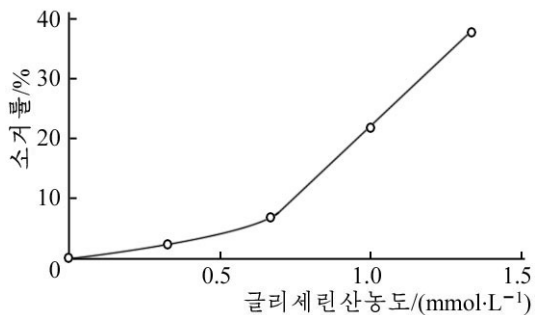


그림 4. 사립체가 있을 때 글리세린산의  $O_2^-$  라디칼소거률(%)

그림 4에서 보는바와 같이 글리세린산의 농도가 높아짐에 따라  $O_2^-$  라디칼의 소거률이 증가하는데 그 정도는 글리세린산농도 0.7mmol/L까지는 약간씩 증가하다가 그 이상에서부터 급격히 높아진다. 측정된 글리세린산농도범위에서 그 소거률은 그림 3의 자료와 량적으로도 거의 일치한다. 이것은 사립체가 있을 때에도 글리세린산자체의 SOD류사활성이 그대로 나타나며 또 그것은 사립체자체의 SOD활성보다 상당히 높다는것을 말하여준다. 다시말하면 사립체의 SOD활성은 글리세린산의 SOD류사활성에 비하여 무시할수 있다.

실험결과들로부터 글리세린산은  $O_2^-$  라디칼에 의한 사립체의 손상을 방지할수 있는 좋은 보호제로 된다고 결론할수 있다.

### 맺 는 말

글리세린산은 간사립체에 대하여 좋은 항산화효과를 나타낸다.

글리세린산은 사립체에서 기름질과산화과정을 억제하는데 글리세린산칼시움농도 2.4mmol/L에서 그 억제률은 거의 25%에 이른다.

글리세린산은 그 자체가  $O_2^-$  라디칼소거활성을 가지는데 3mmol/L농도에서는  $O_2^-$  라디칼을 거의다 소거한다. 글리세린산의  $O_2^-$  라디칼소거활성은 사립체가 있는 조건에서도 거의 그대로 나타난다.

### 참 고 문 헌

- [1] 김일성종합대학학보(자연과학), 60, 9, 97, 주체103(2014).
- [2] 윤경일 등; 과학의 세계, 6, 42, 주체99(2010).
- [3] C. J. Eriksson et al.; Metabolism, 56, 895, 2007.
- [4] P. Heino ; WO 2004/035040 A1, 2004.

주체103(2014)년 7월 5일 원고접수

## Experimental Study on the Anti-Oxidative Activities of Glyceric Acid *in vitro*

Han Tong Sul, Ko Song Guk and Ri Hyong Gwan

In this paper, *in vitro* experimental data for anti-oxidative activities of glyceric acid were described.

Glyceric acid has good anti-oxidative activities. Glyceric acid inhibits peroxidation of lipid in mitochondria, and the inhibition rate reaches to almost 25% at its concentration of 2.4mmol/L. Glyceric acid itself has oblitative activities to superoxide radical, and it almost obliterates the radical at its concentration of 3mmol/L. Superoxide radical oblitative activity of glyceric acid are expressed as it is even in the condition that mitochondria exists.

Key words: glyceric acid, anti-oxidation, lipid peroxidation, superoxide radical