

## Clinical Applications of Antioxidants

Ji-Hoon Park, Gi Ryang Kweon

Department of Biochemistry, School of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, Korea

Reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) are natural by-products of cellular physiological processes involving metabolism of compounds containing oxygen and nitrogen, respectively. Physiological defense mechanisms against ROS/RNS readily convert them into water or urea, but dysregulation of ROS/RNS production damages cells resulting in abnormal conditions such as uncontrolled growth or cell death. ROS/RNS are closely related to the development of a variety of diseases such as cancer, diabetes, neurodegeneration, vascular disease and chronic inflammation. Thus, it has been proposed that the removal of ROS/RNS may prevent or treat oxidative stress-induced diseases. Some antioxidant molecules are synthesized in the body, while others are obtained from food in the diet including fruits, vegetables, meat and even in natural water. In addition to the natural antioxidants, synthetic antioxidants have been modified from natural chemicals so as to increase bioavailability to target organs and increase stability in the air. In developing novel antioxidants for therapeutic use, some factors to consider are: 1) improved efficacy; 2) low side effects (comparatively clear mechanism); 3) competitive price and 4) improved convenience of dosing. In this review, we will discuss the issues mentioned above and the use of antioxidants in clinical application.

**Key Words:** Reactive Oxygen Species; Reactive Nitrogen Species; Antioxidants; Clinical Trial

### 서 론

활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 산소의 산화물로서 매우 큰 반응성으로 인하여 세포 내 단백질, 지질뿐만 아니라 핵산과 결합하여 구조의 변화를 유발한다. 세포대사에 사용되는 전체 산소의 90-95%는 미토콘드리아에서 ATP를 만들어내는 과정에서 소모되며, 이 중 1-2%는 활성산소로 전환된다[1]. 일반적으로 가장 처음 만들어지는 활성산소의 형태는 초과산화물(superoxide,  $O_2^-$ )이며, 이는 미토콘드리아의 전자전달계 중 산화적 인산화 과정의 복합체 I, III에서 대부분 생성된다. 또한 초과산화물은 세포질 또는 지질막에 존재하는 NADPH 산화효소, 크산틴 산화효소(xan-

thine oxidase)에 의해서도 생성된다. 이들은 미토콘드리아와 세포질에 각각 존재하는 망간-초과산화물 불균등화효소(manganese superoxide dismutase, Mn-SOD)와 구리/아연 초과산화물 불균등화효소(copper/zinc superoxide dismutase, Cu/Zn-SOD)에 의해 과산화수소(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )로 전환되어 세포 바깥으로 배출되기도 한다. 최종적으로 과산화수소는 과산화수소분해효소(catalase)와 과산화효소(peroxidase)에 의해 물과 산소분자로 분해되는데, 처리되지 못한 과산화수소의 일부는 전이금속인 환원된 상태의 철을 이용하는 펜톤반응(Fenton's reaction)에 의해 활성산소 중 가장 반응성이 강한 히드록실 라디칼(hydroxyl radical, OH $\cdot$ )로 전환되어 세포 내 소기관의 손상을 초래한다(Fig. 1)[2]. 활성산

Correspondence to: Gi Ryang Kweon  
우301-747, 대전광역시 중구 문화로 226,  
충남대학교 의과대학 생화학교실  
Department of Biochemistry, School of  
Medicine, Chungnam National University,  
226 Munhwa-ro, Jung-gu, Daejeon  
301-747, Korea  
Tel: +82-42-580-8351  
Fax: +82-42-580-8212  
E-mail: mitochondria@cnu.ac.kr

Received 11 March 2013  
Revised 26 April 2013  
Accepted 30 April 2013

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

소는 그 자체의 역할과 더불어 c-Jun N-terminal kinase (JNK), p38, extracellular signal related kinase (ERK) 등의 미토겐 활성화 단백질 키나아제(mitogen-associated kinase, MAPK)뿐만 아니라 nuclear factor-κB (NF-κB) 활성화도 촉진한다. 이들은 산화환원상태에 따라 반응하는 단백질인 apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)에 의해 인산화되어 질병의 유발 원인이 되기도 한다[3,4].

활성산소의 생성과 제거는 매우 유기적으로 조절되지만 세포 내에서 수용할 수 있는 역치한계를 넘어서게 되면 변형된 형태의 단백질의 축적, 지질 형태 변형 및 핵산 변형 등을 통해 세포의 사멸이나 세포의 이상증식으로 인해 종양으로 발전될 수 있다. 활성산소의 과잉생성은 대부분의 질병 또는 질환과 관련되어 있다고 알려져 있으며, 그 중 특히 허혈/재관류에 의한 조직 손상, 대사증후군, 파킨슨병, 알츠하이머병과 같은 퇴행성 신경 질환, 암, 심혈관 질환, 노화 등과 같은 질병과의 관련성에 대한 보고가 계속되고 있다[5,6]. 인류가 발전해 온 이래 자연에서 병을 치료하기 위한 약제를 찾는 노력은 계속되어 왔으며 식물의 잎, 과일, 동식물의 추출물 등 다양한 재료에서부터 화합물들을 찾아내고 그 효능을 밝혀왔다. 수많은 연구들을 통해 질병의 진행에 있어 활성산소의 중요성과 항산화

제의 효능을 입증해왔으며 비타민(vitamin), 카테킨(catechin), 플라보노이드(flavonoid), 카로틴(carotene), 커큐민(curcumin) 등의 항산화물질은 건강보조식품으로뿐만 아니라 다양한 질병을 치료하기 위한 약제로 시도되고 있다[7]. 이에 천연 항산화제에 이어 새로이 합성된 항산화물질이 어떻게 개발되고 임상 적용되고 있는지에 대해 고찰하고자 한다.

## 본 론

### 1. 천연 항산화제의 종류와 임상 적용 현황

#### 1) 비타민(vitamin)

아스코르빈산(ascorbic acid, vitamin C), 알파-토코페롤(α-tocopherol, vitamin E), 엽산(folic acid, vitamin B<sub>9</sub>)을 비롯한 비타민은 수습여 종이 알려져 있으며 일부는 인체 내에서 합성이 가능하지만 일부는 음식을 통해 섭취해야만 한다. 이들 대부분은 우리가 주로 섭취하는 쌀, 육류, 계란, 야채 등에 많이 포함되어 있으며, 이들 중 특정 비타민의 결핍과 관련된 증세들이 잘 알려져 있을 뿐만 아니라 과잉섭취 시 발생하는 부작용에 대한 연구도 많이 되어 있다. 아스코르빈산은 수용성으로 세포 내 항산화물질인 글루타티온(glutathione)에 의해 환원형태로 존재하며 과산화수소와 같은 활성산소를 제거하는 역할을 한다[8]. 또한 2-산소화효소(dioxygenase) 외 몇몇 효소는 기질을 환원시키기 위하여 아스코르빈산을 보조기질로 필요로 한다[9]. 지용성 비타민인 토코페롤은 활성산소에 의한 세포막의 산화를 억제하며 아스코르빈산과 같은 다른 항산화물질에 의해 다시 환원되어 재사용된다[10]. 이러한 천연물 유래 비타민들은 오랫동안 음식을 통해 섭취되어 왔기에 비교적 안전하고 쉽게 임상실험에 적용되어 왔으며 일부에서 그 효과를 검증 받고 있다(Table 1)[7].

#### 2) 카테킨(catechin)

카테킨은 페놀고리 구조를 가진 천연물질로서 (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC) 그리고 (-)-epicatechin (EC) 등이 알려져 있으며 녹차 잎의 주성분인 EGCG는 녹차 한 잔에 200-300 mg이 포함되어 있다. 녹차는 5,000년 이상 인류와 함께 해왔으며 특유의 페놀고리와 고유의 작용기로 인한 항산화 효과로 여러 가지 이로운 효과들이 있는 것으로 알려져 있다. 카테킨은 항암작용(암세포의 사멸

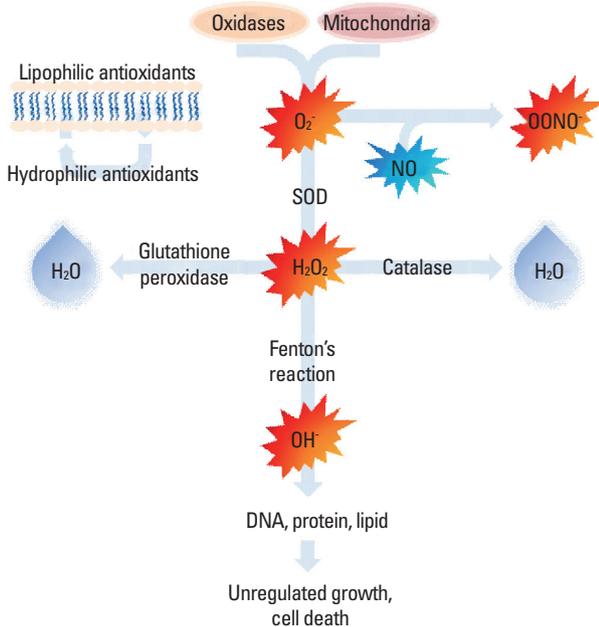


Fig. 1. Production of ROS/RNS and antioxidant system. NO, nitric oxide; SOD, superoxide dismutase.

Table 1. Antioxidants and the Clinical Applications to the Diseases

Vitamins	Diseases
Ascorbic acid (Vitamin C)	Coronary heart disease, hypertension, type 2 diabetes, sepsis, myeloma, neurodegenerative diseases
α-tocopherol (Vitamin E)	Coronary heart disease, atherosclerosis, Parkinson's disease, Alzheimer's disease, type 2 diabetes
Folic acid (Vitamin B <sub>9</sub> )	Stroke, cardiovascular diseases, depression

과 전이 억제), 혈관세포의 보호, 체중감소, 신경세포 보호 등의 기능이 알려져 있으며 이들에 대한 임상 시험이 진행 중이거나 일부에서 긍정적인 결과를 확인하였다[11].

### 3) 커큐민(curcumin)

커큐민은 심황(turmeric)이라는 식물의 성분으로 '카레'의 주성분이라고 잘 알려진 화합물이다. 1815년에 염료로 발견되어 1910년 구조가 밝혀지고 합성이 가능하게 되었다. 지질친화성이 높고 활성산소뿐만 아니라 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) 등과 같은 라디칼과 반응성을 가져 지질 산화를 효과적으로 억제할 수 있는 것으로 밝혀졌다[12]. 항산화 능력에 중요한 작용기는 양쪽의 페놀고리 구조보다 가운데 위치한 메틸렌기가 중요한 것으로 알려졌으며, 조건에 따라 산화촉진제로도 작용하여 암세포의 사멸을 유도할 수 있음이 밝혀졌다[13]. 2011년까지 1,500여 건의 특허와 56여 건의 임상시험에 대한 보고가 있으며, 지속적인 연구가 진행되고 있다. 활성산소와 활성질소에 대한 반응성이 있는 것으로 알려져 있으며 간에서의 대사속도가 빨라 섭취 후 1시간 이내에 체외로 배출된다. 현재까지 활성산소 또는 활성질소와 관계 있는 것으로 알려진 질병들에 대한 임상시험이 진행 중이거나 일부에서 긍정적인 결과를 확인하였다[14].

### 4) 레스베라트롤(resveratrol)

레스베라트롤은 적포도주의 성분 중 하나로서 "French Paradox"라고 하는 심혈관질환의 유병률과 적포도주의 섭취의 역관계성에 대한 역학조사결과에서 처음으로 주목받기 시작했다[15]. 레스베라트롤은 그 자체의 항산화능력과 질산화물(nitric oxide, NO) 생성 증가를 통해 혈관을 확장시킴으로써 심장의 재관류 손상과 부정맥을 억제하는 것으로 확인되었다[16]. 그 외에도 Akt, ERK1/2 등의 활성화를 통해 NAD(P)H: quinone oxidoreductase (NQO1), heme oxygenase-1 (HO-1)과 같은 활성산소의 처리에 관련된 효소들이 anti-oxidant response element (ARE)를 통해 발현 증가됨이 확인되었다[17]. 레스베라트롤은 효모, 꼬마선충, 초파리 등의 수명을 연장시킨다는 보고가 있었으나, 대부분의 진핵생물에서는 수명 연장과는 관계 없이 sirtuin 단백질량을 증가시켜 미토콘드리아의 기능을 증진시키고 당대사 흐름을 개선시킬 수 있다고 알려졌다[18,19]. 다양한 연구를 통해 레스베라트롤이 수명을 연장시킬 수 있을 거란 기대는 깨졌지만, 여전히 건강한 삶을 위해 sirtuin 단백질량을 조절하는 것이 중요하고 레스베라트롤이 도움을 줄 수 있다는 보고들은 계속되고 있다. 또한 레스베라트롤은 여전히 암의 발병, 심혈관질환, 당뇨병, 뇌질환 등에 대한 치료제로서의 가능성을 가지고 실험들이 진행되고 있다.

## 2. 합성 항산화제의 종류와 특징

### 1) 글루타티온 유도체

글루타티온은 글루탐산, 시스테인, 글리신 세 개 아미노산의 중합체로 매우 환원성이 뛰어난 설프하이드릴기(sulfhydryl group)를 통해 두 개의 글루타티온 분자가 수소 분자 두 개를 내어놓으며 하나의 글루타티온 이황화물(glutathione disulfide, GSSG)을 형성한다. 글루타티온은 직접 활성산소와 결합하기도 하지만 글루타티온 과산화효소(glutathione peroxidase, GPx) 또는 글루타티온 S-전이 효소(glutathione S-transferase, GST) 등을 통해 기질을 환원시키고 자신은 산화되어 GSSG형태로 전환된다. 산화 형태의 GSSG는 글루타티온 환원효소(glutathione reductase)에 의해 NADPH를 사용하여 GSH로 환원되어 재이용된다. 글루타티온은 세포 내에 1-10 mM 정도의 농도를 유지하고 있으며 혈액 내에도 10-30 μM 정도가 존재하고 있다[20,21]. 세포 내에서 높은 농도를 유지하고 있으며 계속 재사용될 수 있음에도 글루타티온은 세포막을 투과하는 능력이 매우 낮기 때문에 세포 내로 글루타티온을 효율적으로 주입시키려는 노력이 계속되고 있다. 그 중 에틸에스테르화를 통해 세포 내 수송률을 높이는 방법이 이용되거나, 글루타티온 합성에 필요한 물질인 시스테인의 공급을 증가시킴으로써 세포 내에서 글루타티온의 신생 합성을 돕는 방법 등이 이용되고 있다[22,23]. N-아세틸시스테인(N-acetylcysteine, NAC)의 경우, 그 자체의 타이올기(thiol group, -SH)로 항산화능력을 갖기도 하지만 글루타티온 합성 단계의 속도결정단계에 중요한 시스테인 공급원으로 작용하여 세포 내의 글루타티온의 농도를 높여 준다[24]. NAC은 아세트아미노펜에 과다 투여에 의한 급성 간독성에 대한 치료제로 임상에서 사용되고 있으며, 그 외 바이러스나 약물에 의해 유발되는 급성 간독성 모델에 대한 적용도 시도되고 있다[25].

### 2) 마이토퀴논(mitoquinone)

미토콘드리아 전자전달계 사슬의 전자 주개/받개인 유비퀴논(ubiquinone, coenzyme Q)은 매우 효율적인 항산화물질이다. 마이토퀴논은 유비퀴논의 낮은 수용성을 극복하고 세포 내로의 원활한 유입을 위하여 지용성 작용기인 triphenylphosphonium (TPP) 양이온과 결합시킨 물질이다[26]. TPP 양이온은 *in vitro*뿐만 아니라 *in vivo*에서도 미토콘드리아에 특이적으로 이동하는 것으로 알려져 있다[27]. 마이토퀴논은 TPP에 의한 고유의 양전하로 인해 막전위 차에 의존적으로 세포질 및 미토콘드리아 막을 투과하여 미토콘드리아 내막에 고농도로 존재하게 된다. 산화적 인산화 과정에서 2번째 복합체인 숙신산염 탈수소효소(succinate dehydrogenase)에 의해 항산화능력을 갖는 퀴놀형태로 전환되지만, 유비퀴논처럼 3번째 복합체에 의해 다시 산화되지는 못한다. 퀴놀형태로 전환된 마이토퀴논은 초과산화물뿐만 아니라 퍼옥시나이트라이트(peroxynitrite, OONO)도 직접 제거하지만 과산화수소와의 반

응성은 거의 없다. 실험동물인 C57BL/6에 마이토퀴논(500  $\mu\text{M}$ )을 20-28주 동안 구강 투여했을 때 운동성, 산소 소모량 등 생리적인 변화는 없었으며, 조직 내에서 특히 미토콘드리아 내에서 유의할 만한 유전자 발현량의 차이는 보이지 않았다[28]. 마우스를 이용한 실험에서 마이토퀴논은 허혈/재관류 심장 손상, 니트로글리세린에 의한 혈관내피세포 손상, lipopolysaccharide (LPS) 등으로 유발한 폐혈증, 아드리아마이신(adriamycin)에 의한 심장 손상 등을 억제하였다. 임상 1상 시험에서는 80 mg (1 mg/kg)의 마이토퀴논 투여 1시간 후 혈장 내 농도가 33.15 ng/mL로 좋은 약동학적 결과를 보여주었고, 파킨슨병과 C형 간염에 대한 임상시험 결과에서는 C형 간염시험에서만 유의한 간손상 억제효과를 보여주었다[29].

미토콘드리아는 세포 내에서 활성산소를 가장 많이 생성하는 기관으로서 다양한 질병이 미토콘드리아 유래 활성산소와 밀접한 연관이 있는 바, 미토콘드리아를 표적으로 하는 항산화물질은 적응증이 무궁무진하다 할 수 있다. 이에 마이토퀴논은 특정 소기관으로 이동할 수 있는 항산화제로 매우 큰 관심을 받았으나 퀴논구조의 특성상 하나의 전자를 받은 상태인 세미퀴논 형태가 되면 전자를 내어주려는 성질로 인해 산화촉진제로서 작용할 수 있어 오히려 정상세포의 호흡을 억제하거나 세포사멸을 유도할 수도 있어 사용에 주의를 요하고 있다[30].

### 3) 초과산화물 불균등화효소(superoxide dismutase, SOD)/

과산화수소분해효소(catalase) 유사제

금속포르피린(metalloporphyrin)은 헴(heme) 구조와 같은 보결분자단(prosthetic group)으로 헤모글로빈, 마이오글로빈, 산화질소 합성효소(nitric oxide synthase), 사이토크롬 산화효소(cytochrome oxidase), 사이토크롬 P450 시스템(cytochrome P450 system) 그리고 사이클로옥시지네이스(cyclooxygenase) 등에 존재하고 있다. 이들은 자연계에 존재하는 형태로 다음과 같은 장점을 가진다. (1) 체내에서 거부감이 적다. 즉, 면역반응을 거의 유발하지 않으며 작은 분자량으로 인해 세포 내로의 투과도가 높다. (2) 합성과 변형이 용이하다. (3) 포르피린 구조는 매우 안정한 형태이며 전이 금속과의 결합력이 매우 좋아 구조 그대로 세포 내로 유입되어 작용할 수 있다[31]. 이와 비슷한 형태로 살렌(salen) 구조가 있으며 전이금속과 반응성이 좋은 포르피린과 유사한 특성을 가져 합성 항산화제로 다양한 종류가 개발되고 있다.

이들은 초과산화물 불균등화효소의 기능과 유사하게 세포 내에서 초과산화물을 산소와 과산화수소로 분해하며 몇몇 형태의 망간-포르피린/망간-살렌은 과산화수소를 물과 산소로 분해하는 과산화수소분해효소의 기능과 유사하여 초과산화물 불균등화효소/과산화수소분해효소 유사제(SOD/catalase mimics)로 불린다. 대표적인 약물로는 EUK-8, -134, -189, MnTBAP, Tempol 등이 있으며, 현재까지 임상에서 탁월한 성과는 보이지 못하고 있지만

다양한 동물실험 모델에서 효과를 보이고 있다[31].

### 4) 네크록스(NecroX)

인돌(indole)은 방향성 유기화합물로서 벤젠고리(benzene ring)와 피롤고리(pyrole ring)의 결합된 구조를 가지고 있으며 자연계에 존재하는 대표적인 인돌 구조를 가진 물질에는 트립토판, 멜라토닌 등이 있다[32]. 네크록스 계열 약물은 인돌 구조를 기반으로 다양한 작용기를 적용하여 효능 및 수용성을 높이거나 체내 흡수율과 체외 배출율을 증가시킨 합성 물질이다. 천연물만큼의 안전성은 아직 확인되지 않았으나 마우스, 랫 등의 실험동물에 장기 투여 시에도 특별한 기관 이상을 초래하지 않았으며, 10  $\mu\text{M}$  미만 농도의 *in vitro* 실험에서 저농도 노출 또는 과량의 활성산소에 의한 세포괴사(necrosis)를 억제하는 것으로 확인되었다. 네크록스는 세포 수준에서 활성산소종 및 활성질소종의 생성을 억제할 수 있음을 DCF-DA, DHR123 등의 형광시약을 이용하여 확인하였으며, 다른 어떤 효소의 도움 없이도 특정 라디칼의 반응성을 억제하였다[33]. 비글견(beagle dog)에 네크록스를 혈관으로 투여 후 간으로 유입되는 혈관을 막았다 풀어주는 허혈 재관류 간 손상 *in vivo* 모델에서 네크록스는 혈액 내 간효소 수치를 정상으로 유지시켰으며, 간세포의 세포괴사를 효과적으로 억제함을 확인하였다[34]. 간 세포 내에서 과량의 활성산소 생성과 세포괴사가 발생하는 *in vivo* 모델인 아세트아미노펜 과량 투여 모델에서도 네크록스는 간 기능을 효과적으로 보호함을 확인하였다. 이때에는 활성산소, 활성질소뿐만 아니라 주로 아세트아미노펜의 대사 중간체인 N-acetyl-para-benzoquinone imine (NAPQI)과 직접 결합함으로써 아세트아미노펜에 의한 간의 손상을 억제하였다[35]. 종합적으로 네크록스의 주된 기능은 활성산소, 활성질소 그리고 몇몇 라디칼들과 반응하며, 과도한 활성산소 발생으로 인한 세포괴사를 효과적으로 억제하는 것으로 생각되며, 현재 NecroX-7이 심근경색을 대상으로 임상 1상 시험 진행 중이다.

### 5) 그 외의 합성 항산화물질

Trolox는 비타민 E의 유도체로 물에 쉽게 녹을 수 있는 형태로 변형한 물질이며, 혼합물의 항산화능력을 측정하기 위한 표준법으로 Trolox를 기준으로 하는 trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 방법을 사용하기도 한다. 정상세포에서 외부 자극으로 인해 유발되는 세포사멸을 억제하거나, 암세포의 증식을 *in vitro*에서 억제한다는 보고들이 나오고 있으나 아직 임상 적용되고 있지는 않다.

Erdosteine은 타이올기(thiol group, R-SH)를 갖는 화합물로서 세포 내에서 대사되면 황화수소기(-SH)가 노출되어 뮤코다당류 분해기능과 자유라디칼과 반응 능력을 갖게 된다. 흡연 등으로 인해 유발되는 만성 폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary dis-

ease, COPD)에 효과가 있다[36].

### 3. 치료제로서 항산화물질의 개발과 전망

활성산소와 질병의 연관성에 대한 보고 및 항산화물질의 효능에 대한 논문은 한 해에도 2만여편 이상 출간되고 있다. 항산화물질은 인류의 진화와 함께 생활 속 어디에나 존재해 왔으며, 우리도 모르는 사이 음식을 통해 섭취된다. 하지만 가공 및 가열 식품의 발달로 인해 많은 항산화물질이 파괴되어 음식을 통한 섭취만으로는 부족하게 되었고, 결국 추가적으로 섭취해야만 체내에서 필요한 양을 충족시킬 수 있다. 이러한 항산화물질은 세포 내에서 산화-환원 반응을 조절하기도 하며 세포 성장 및 외부 자극에 대한 반응에 필수적인 요소로 알려져 있다. 나이가 몇몇 항산화물질은 영양보충제로서의 역할뿐만 아니라 암세포의 증식을 억제하거나 또는 정상적인 세포의 기능을 보호하는 것으로 밝혀져 치료제로서의 역할도 중요시되고 있다[37-39].

임상시험은 크게 네 단계의 과정을 거쳐 진행된다. 1단계에서는 20-100명의 건강한 지원자를 대상으로 다양한 농도의 약물을 주입한 후 약물의 대사과정이나 배출과정을 관찰하며 안전성을 평가한다. 2단계와 3단계에서는 각각 100-300명, 1,000-2,000명의 환자를 대상으로 하여 전반적인 약물투여 방법에 대한 프로토콜의 정립과 효능 및 안전성을 평가한다. 마지막으로 시장에 진출 후 약물의 장기적인 효과 및 부작용을 관찰한다(4단계, post-marketing surveillance)[40]. 대부분의 항산화제가 유효 농도 범위 내에서는 비교적 안전하며 1단계의 임상시험은 쉽게 통과하는 경향이 있으나, 기존의 치료법(gold-standard treatment)에 비해 효과가 떨어지는 경우가 많다. 또한 활성산소의 생성이 세포의 기능 손상을 유발하는 경우도 있지만 세포 신호 전달 물질로도 이용됨으로써 단순히 활성산소의 생성을 억제하는 기능만으로 임상시험의 2단계, 3단계의 장벽을 넘기가 쉽지 않다. 몇몇 연구자들은 항산화제의 임상시험 중도 탈락의 원인으로 잘못된 디자인, 시험의 질, 샘플의 균질성, 질병의 진행상태, 농도, 처치 시점, 식이와의 연관성 그리고 유전자 변형 등의 이유를 제시하고 있다[31,41]. 급발성으로 진행되는 질병보다 만성적으로 진행되는 질병에서 항산화제의 임상 탈락률이 높으며, 이를 통해 이미 활성산소에 의한 손상이 진행된 후에는 항산화제의 역할 자체가 적을 것으로 예측된다.

몇 가지 임상시험 결과를 살펴보면 항산화제의 효능에 대한 의구심이 생기기도 한다. 1992년부터 2004년까지 실시된 45세 이상의 여성 39,876명을 대상으로 한 10년간의 임상시험에서는 600 IU의 비타민 E를 하루 간격으로 복용토록 한 후 심혈관질환과 종양의 발병률을 관찰하였다. 그 결과, 속임약(placebo)군 대비 비타민 E 복용군에서 심혈관질환과 종양의 발병률에 통계적 유의성이 없었다[42]. 또한, 프랑수인 13,017명을 대상으로 비타민 C, E, 베타-카로틴 등의 항산화제를 7.5년 동안 투여하였지만 심혈관질환의 발병률에

는 영향을 미치지 않았다[43]. 암의 발병률에 있어서도 40-84세 사이의 20,071명의 남성을 대상으로 이들에 한번 50 mg의 베타-카로틴을 12년간 투여하였을 때 암의 발병률이나 심혈관질환으로 인한 사망에 영향을 미치지 않았다[44].

그럼에도 불구하고, 항산화물질이 신약으로서 매력을 가지는 이유는 활성산소 또는 자유라디칼이 질병의 진행과 노화에 영향을 미치는 것에 대해 부정할 수 없으며, 몇몇 조사에서는 긍정적인 결과를 확인하였기 때문이다. 조사 대상을 좀 더 세분화하여 활성산소의 발생이 극대화되었을 것으로 생각되는 그룹(제2형 당뇨병 환자 중 항산화물질인 합토클로빈의 유전적 이상을 가진 그룹)의 조사 결과, 비타민 E의 투여가 심근경색증, 뇌졸중, 심혈관계 질환으로 인한 사망률을 유의하게 감소시켰다(투여군 2.2% 대비 속임약군 4.7% ( $p = 0.01$ ))[45]. 또한 비흑색종 피부암(nonmelanoma skin cancer) 환자 1312명을 대상으로 매일 셀레늄(selenium) 200  $\mu$ g을 투여하고 약 2년 후 재발률을 살펴보았을 때 폐, 대장에서의 재발에는 효과가 없었지만 전립선에서의 재발에는 통계적 유의성을 확인할 수 있었다[46].

위 결과에서 보듯, 항산화물질이 동물실험 결과에서 기대한 만큼의 효과를 보이지 않거나 그 결과에 대한 논란의 여지가 있지만 현재도 항산화물질의 효능을 극대화하기 위하여 기존에 알려진 다양한 형태의 항산화물질뿐만 아니라 에틸에스테르화 글루타티온, 미토퀴논과 같은 변형된 형태의 물질들도 속속 개발되고 있으며, 부작용은 최대한 줄이고 화합물의 안전성과 표적 특이성 그리고 체내 흡수율 등을 증가시킨 이상적인 형태의 치료물질로서 항산화물질의 개발이 계속되고 있다(Fig. 2).

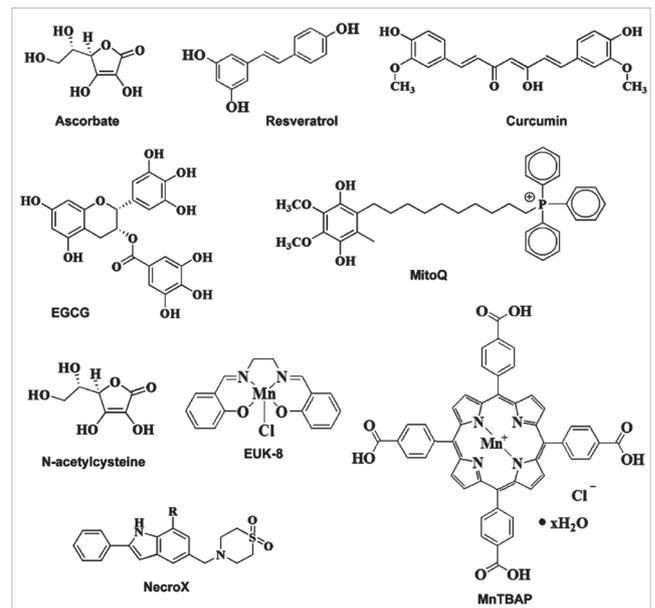


Fig. 2. Structures of antioxidant molecules. EGCG, (-)-epigallocatechin-3-gallate; MitoQ, Mitoquinone.

## 결론

활성산소는 정상적인 세포에서 산소의 산화물로 자연스럽게 생성되는 부산물이지만 미토콘드리아의 기능이상이나 산화효소(oxidases) 등에 의해 과량이 생성되는 경우, 또는 활성산소를 제거하는 효소들의 기능이상으로 인해 제대로 처리되지 않으면 결국 세포 기능 소실과 세포 사멸을 초래한다. 다양한 질병과 활성산소와의 연관성에 대한 많은 연구가 있었기에 항산화물질의 효능에 대한 관심 또한 클 수밖에 없다. 하지만 이러한 물질들이 항산화 능력을 보이는 것 이외에 세포 내의 신호 전달 체계를 조절한다거나 농도에 따라 활성산소 제공자로서 역할을 할 수 있다는 연구 결과들이 발표되고 있어 아직 항산화물질을 모든 질병에 대한 치료제로서 이용하기엔 어려운 상황이다. 또한 성공적으로 임상시험을 통과하기 위해서는 몇 가지 조건을 충족시켜야 한다. 첫째, 기존에 사용되고 있는 약물에 비해 부작용이 적고 효능이 우수해야 한다. 둘째, 가격 경쟁력이 있어야 한다. 셋째, 투여 방법이 용이해야 한다(구강>피하>정맥주사). 이상의 조건들을 만족해야 임상시험을 통과할 수 있는 충분 조건이 되는데 대부분의 항산화제는 현재 각각의 질병에 사용되고 있는 기존 약물(gold-standard treatment)에 비해 앞서 언급한 조건들을 충족시키지 못하는 경우가 대부분이다. 또한 활성산소가 질병을 유발하는 필수 조건인지에 대한 논의도 계속되고 있어 항산화제의 효능에 대한 의문은 여전히 남아있다. 반면 항산화물질의 효능을 지지하는 많은 연구자들은 항산화제가 임상에서 기대한 만큼의 효능을 보이지 못하는 것에 대해 다음과 같은 이유를 제시하고 있다. 1) 활성산소 제공자로서 작용할 수 있어 높은 농도를 투여할 경우 치명적일 수 있어 충분한 양의 항산화물질을 투여하지 못하는 경우; 2) 자연계에 존재하는 항산화물질과 다른 형태(이성질체)의 저가의 합성 비타민의 이용(예를 들어, 자연계에 8가지의 이성질체가 존재한다면 임상시험에서는 1가지의 이성질체만으로 시험을 진행); 3) 약물의 농도와 임상시험의 기간이 적절하지 않음. 질병의 유발이 수년에서 수십 년에 걸쳐 일어나는 퇴행성 질환의 경우 임상시험 기간이 효과를 확인하기에 상대적으로 짧을 수도 있음; 4) 잘못된 환자군의 이용. 질병의 진행상태나 발병원인의 개인차가 심한 경우 상반된 효과를 보일 수 있음[41,47]. 이는 잘 디자인 된 임상시험에서 항산화물질의 효능을 확인한 것에 미루어 보아 항산화물질이 만병통치약은 아니지만 잘 디자인 된 실험군 내에서는 기대한 효과를 보일 수 있음을 알 수 있다[48,49].

결론적으로, 앞으로 많은 연구들을 통하여 기존의 항산화물질을 개량하고 잘 계획된 임상시험을 통해 동물실험에서의 긍정적 결과들을 사람에게 적용시킬 수 있다면 암, 당뇨병, 뇌질환 등 난치성 질환들을 치료할 수 있는 좋은 도구가 될 수 있을 것으로 기대된다.

## REFERENCES

- Bartz RR, Piantadosi CA. Clinical review: oxygen as a signaling molecule. *Crit Care* 2010;14:234.
- Preiser JC. Oxidative stress. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2012;36:147-54.
- Runchel C, Matsuzawa A, Ichijo H. Mitogen-activated protein kinases in mammalian oxidative stress responses. *Antioxid Redox Signal* 2011;15:205-18.
- Pan JS, Hong MZ, Ren JL. Reactive oxygen species: a double-edged sword in oncogenesis. *World J Gastroenterol* 2009;15:1702-7.
- Alfadda AA, Sallam RM. Reactive oxygen species in health and disease. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:936486.
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44-84.
- Devasagayam TP, Tilak JC, Boloor KK, Sane KS, Ghaskadbi SS, Lele RD. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *J Assoc Physicians India* 2004;52:794-804.
- Ortega R. Importance of functional foods in the Mediterranean diet. *Public Health Nutr* 2006;9:1136-40.
- Arrigoni O, De Tullio MC. Ascorbic acid: much more than just an antioxidant. *Biochim Biophys Acta* 2002;1569:1-9.
- Herrera E, Barbas C. Vitamin E: action, metabolism and perspectives. *J Physiol Biochem* 2001;57:43-56.
- Mak JC. Potential role of green tea catechins in various disease therapies: progress and promise. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012;39:265-73.
- Ak T, Gulcin I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem Biol Interact* 2008;174:27-37.
- Chen WF, Deng SL, Zhou B, Yang L, Liu ZL. Curcumin and its analogues as potent inhibitors of low density lipoprotein oxidation: H-atom abstraction from the phenolic groups and possible involvement of the 4-hydroxy-3-methoxyphenyl groups. *Free Radic Biol Med* 2006;40:526-35.
- Gryniewicz G, Slifirski P. Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochim Pol* 2012;59:201-12.
- Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992;339:1523-6.
- Hung LM, Chen JK, Huang SS, Lee RS, Su MJ. Cardioprotective effect of resveratrol, a natural antioxidant derived from grapes. *Cardiovasc Res* 2000;47:549-55.
- Kelkel M, Jacob C, Dicato M, Diederich M. Potential of the dietary antioxidants resveratrol and curcumin in prevention and treatment of hematologic malignancies. *Molecules* 2010;15:7035-74.
- Kaerberlein M, McDonagh T, Heltweg B, Hixon J, Westman EA, Caldwell SD, et al. Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. *J Biol Chem* 2005;280:17038-45.
- Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, et al. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab* 2008; 8:157-68.
- Meister A, Anderson ME. Glutathione. *Annu Rev Biochem* 1983;52:711-60.
- Jones DP, Carlson JL, Mody VC, Cai J, Lynn MJ, Sternberg P. Redox state of glutathione in human plasma. *Free Radic Biol Med* 2000;28:625-35.
- Levy EJ, Anderson ME, Meister A. Transport of glutathione diethyl ester into human cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:9171-5.
- Dringen R, Hamprecht B. N-acetylcysteine, but not methionine or 2-oxothiazolidine-4-carboxylate, serves as cysteine donor for the synthesis of

- glutathione in cultured neurons derived from embryonal rat brain. *Neurosci Lett* 1999;259:79-82.
24. Smilkstein MJ, Knapp GL, Kulig KW, Rumack BH. Efficacy of oral N-acetylcysteine in the treatment of acetaminophen overdose. Analysis of the national multicenter study (1976 to 1985). *N Engl J Med* 1988;319:1557-62.
  25. Koch A, Trautwein C. N-acetylcysteine on its way to a broader application in patients with acute liver failure. *Hepatology* 2010;51:338-40.
  26. Kelso GF, Porteous CM, Coulter CV, Hughes G, Porteous WK, Ledgerwood EC, et al. Selective targeting of a redox-active ubiquinone to mitochondria within cells: antioxidant and antiapoptotic properties. *J Biol Chem* 2001;276:4588-96.
  27. Smith RA, Porteous CM, Gane AM, Murphy MP. Delivery of bioactive molecules to mitochondria in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5407-12.
  28. Rodriguez-Cuenca S, Cocheme HM, Logan A, Abakumova I, Prime TA, Rose C, et al. Consequences of long-term oral administration of the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ to wild-type mice. *Free Radic Biol Med* 2010;48:161-72.
  29. Smith RA, Murphy MP. Animal and human studies with the mitochondria-targeted antioxidant MitoQ. *Ann N Y Acad Sci* 2010;1201:96-103.
  30. Doughan AK, Dikalov SI. Mitochondrial redox cycling of mitoquinone leads to superoxide production and cellular apoptosis. *Antioxid Redox Signal* 2007;9:1825-36.
  31. Batinic-Haberle I, Reboucas JS, Spasojevic I. Superoxide dismutase mimics: chemistry, pharmacology, and therapeutic potential. *Antioxid Redox Signal* 2010;13:877-918.
  32. Shirinzadeh H, Eren B, Gurer-Orhan H, Suzen S, Ozden S. Novel indole-based analogs of melatonin: synthesis and in vitro antioxidant activity studies. *Molecules* 2010;15:2187-202.
  33. Kim HJ, Koo SY, Ahn BH, Park O, Park DH, Seo DO, et al. NecroX as a novel class of mitochondrial reactive oxygen species and ONOO(-) scavenger. *Arch Pharm Res* 2010;33:1813-23.
  34. Choi JM, Park KM, Kim SH, Hwang DW, Chon SH, Lee JH, et al. Effect of necrosis modulator necrox-7 on hepatic ischemia-reperfusion injury in beagle dogs. *Transplant Proc* 2010;42:3414-21.
  35. Park JH, Seo KS, Tadi S, Ahn BH, Lee JU, Heo JY, et al. An indole derivative protects against acetaminophen-induced liver injury by directly binding to N-Acetyl-p-Benzoquinone imine in mice. *Antioxid Redox Signal* 2013;18:1713-22.
  36. Rahman I, Adcock IM. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD. *Eur Respir J* 2006;28:219-42.
  37. Spagnuolo C, Russo M, Bilotto S, Tedesco I, Laratta B, Russo GL. Dietary polyphenols in cancer prevention: the example of the flavonoid quercetin in leukemia. *Ann N Y Acad Sci* 2012;1259:95-103.
  38. Cutando A, Lopez-Valverde A, Arias-Santiago S, J DEV, RG DED. Role of melatonin in cancer treatment. *Anticancer Res* 2012;32:2747-53.
  39. Warner DS, Sheng H, Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J Exp Biol* 2004;207:3221-31.
  40. Phases of clinical research [Internet]. Wikipedia; 2013 [cited 2013 Mar 15]. Available from: [http://en.wikipedia.org/wiki/Phases\\_of\\_clinical\\_research](http://en.wikipedia.org/wiki/Phases_of_clinical_research)
  41. Steinhilb SR. Why have antioxidants failed in clinical trials? *Am J Cardiol* 2008;101:14D-19D.
  42. Lee IM, Cook NR, Gaziano JM, Gordon D, Ridker PM, Manson JE, et al. Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005;294:56-65.
  43. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004;164:2335-42.
  44. Hennekens CH, Buring JE, Manson JE, Stampfer M, Rosner B, Cook NR, et al. Lack of effect of long-term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 1996;334:1145-9.
  45. Milman U, Blum S, Shapira C, Aronson D, Miller-Lotan R, Anbinder Y, et al. Vitamin E supplementation reduces cardiovascular events in a subgroup of middle-aged individuals with both type 2 diabetes mellitus and the haptoglobin 2-2 genotype: a prospective double-blinded clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28:341-7.
  46. Duffield-Lillico AJ, Reid ME, Turnbull BW, Combs GF Jr, Slate EH, Fischbach LA, et al. Baseline characteristics and the effect of selenium supplementation on cancer incidence in a randomized clinical trial: a summary report of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;11:630-9.
  47. Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2007;297:842-57.
  48. Liu L, Meydani M. Combined vitamin C and E supplementation retards early progression of arteriosclerosis in heart transplant patients. *Nutr Rev* 2002;60:368-71.
  49. Stephens NG, Ludman PF, Petch MC, Schofield PM, Shapiro LM. Changing from intensive anticoagulation to treatment with aspirin alone for coronary stents: the experience of one centre in the United Kingdom. *Heart* 1996;76:238-42.