

## GC/MS를 이용한 요 중 resveratrol과 그 대사체에 관한 연구

정현주 · 팽기정<sup>1</sup> · 김연제<sup>★</sup>

한국과학기술연구원, <sup>1</sup>연세대학교 이과대학 화학과  
(2011. 1. 18. 접수, 2011. 3. 20. 승인)

### Studies on resveratrol and its metabolite in human urine by GC/MS

Hyunjoo Jung, Kijung Paeng<sup>1</sup> and Yunje Kim<sup>★</sup>

Korea Institute of Science and Technology, P.O.Box 131, Cheongryang, Seoul, Korea

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Yonsei University, Wonju, Korea

(Received January 18, 2011; Accepted March 20, 2011)

**요 약:** Resveratrol을 GC/TOF-MS를 이용하여 대사체를 확인한 결과, 두 개의 phenyl기를 연결하는 이중결합이 단일결합으로 환원된 구조로 추정되었다. 또한, GC/MSD를 이용하여 resveratrol 및 내인성스테로이드의 분석법에 대한 유효성을 점검한 결과, 회수율은 96.47 - 114.74%의 범위로 나타났으며, intra-day와 inter-day의 정밀도는 1.40 - 10.87%과 1.10 - 10.93% 그리고 정확도는 80.03 - 119.92%과 80.02 - 119.56%로 조사되었고, 모두 0.996이상의 직선성을 나타내어 유효한 분석 방법으로 검증되었다. 한편, 지원자들에게 resveratrol을 경구투여 한 요시료로부터 resveratrol과 그 대사체에 대한 상관성을 조사해본 결과, 요 중 최대농도 도달시간이 일반적인 약물(1 - 2시간) 보다 긴 10 - 15시간에 나타났으며, 대사체로의 전환율은 남성보다 여성이 높게 나타났다. 한편, 내인성 스테로이드는 약물 복용 후 20시간까지는 resveratrol 및 그 대사체와 다소 유사한 분비형태를 나타내었으며, estrone과 estradiol의 경우 여성이 남성에 비해 이 약물에 대한 민감성이 높게 나타났다. 그 외의 내인성 스테로이드는 유의할만한 차별된 분비형태의 변화가 나타나지 않았다. 따라서 resveratrol의 경우 약물의 활성이 남성보다는 여성에게 유의한 영향을 미치는 것으로 추측되었다.

**Abstract:** This study was conducted to define metabolite of the resveratrol by gas chromatography- time-of-flight mass spectrometric detection. From these results, we suppose that the structure of metabolite is the result of reduction of double-bond attached by two-phenyl groups. Also, validity of method for determining metabolite of resveratrol and endogenous steroids was tested. The recoveries ranged from 96.47 to 114.74%, and intra- and inter-day precision ranged 11.40 - 10.87% and 1.10 - 10.93%, accuracy ranged 80.03 - 119.92% and 80.02 - 119.56%, respectively. Resveratrol and endogenous steroids had correlation coefficients above or equal to 0.996. The method was successfully validated for the determination of resveratrol and endogenous steroids. Urinary samples from volunteers dosed resveratrol were analyzed to confirm a correlation resveratrol and its metabolite. From these results, the highest level of resveratrol and its metabolite was excreted in 10 - 15 hr more slowly

★ Corresponding author

Phone : +82-(0)2-958-5060 Fax : +82-(0)2-958-5839

E-mail : yjkim@kist.re.kr

www.kci.go.kr

than common drug, and conversion rate of metabolite was higher in woman than that in man. In addition, endogenous steroids were shown same the highest level of 10 - 15 hr. For estrone and estradiol, sensitivity was relatively higher in female than in man. And there were no significant changes of excretion patterns in the other endogenous steroids. Thus, we assumed that activation of resveratrol has impact on woman than man.

**Key words :** resveratrol, metabolite, endogenous steroids, profiling analysis, GC/MS

## 1. 서 론

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene)은 다양한 식물에서 발견되는 폴리페놀계의 phytoalexin 중의 하나로서, 세균 및 곰팡이의 감염 및 병충해 등으로부터 스스로를 보호하기 위하여 합성되는 것으로 알려져 있다.<sup>14</sup> Resveratrol은 오디, 땅콩 그리고 포도를 포함한 최소 72 종 이상의 식물체에서 발견되는데, 신선한 포도 껍질에는 g당 약 50-100  $\mu\text{g}$ 의 resveratrol이 포함되어 있으며 포도 재배 품종, 그곳의 지리적인 상황과 곰팡이 감염에 노출된 정도에 따라 달라지는 것으로 알려져 있다.<sup>5</sup> 또한 resveratrol은 항암 작용이 있다는 사실이 보고되었고,<sup>6-11</sup> 유해한 물질들의 독성을 완화시키며, 비정상 세포들의 증식을 강력하게 억제할 수 있는 작용이 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>12-14</sup> Cytokines의 생산억제 및 free radical 소거기능과 같은 항산화작용, cyclooxygenase저해 등의 항염증 작용, 혈소판 응집 저해, low density lipoprotein의 산화억제, 동맥경화방지 등<sup>15-16</sup> 다양한 생리활성을 갖기 때문에 각광받는 것으로 알려져 있다.

이와 같은 기능 외에 resveratrol은 식물성 에스트로젠(phytoestrogen)의 범주에 포함되는 페놀류 화합물로서 에스트로젠과 유사한 활성을 나타낸다.<sup>17</sup> 에스트로젠은 생체에서 성호르몬의 기능 이외에도 골대사의 주요한 조절인자로서 직접적으로 골세포의 DNA 합성을 촉진하여 폐경기 여성의 골다공증 치료에 이용되고 있지만, 불규칙한 자궁출혈, 자궁내막암 및 유방암과 같은 부작용을 유발하는 등의 단점이 있다.<sup>18-19</sup> 따라서 최근에는 에스트로젠의 대체물질로서 자연 식이성분에 대한 연구가 진행되고 있고, 이러한 관점에서 식물성 에스트로젠의 일종으로서 resveratrol이 주목 받고 있다.<sup>17</sup> Gehm 연구팀은 MCF-7 유방암세포에서 resveratrol이 estradiol (E2)과 결합하여 에스트로젠의 특성을 증대시킨다고 보고하였다.<sup>20</sup> 하지만 Lu 연구팀은 Gehm 연구팀과는 반대로 resveratrol이 에스트로젠의 특성을 감소시킨다고 보고하였다.<sup>21</sup> 최근에는 포도주에서 resveratrol을 분석하기 위한 많은 방법이 연구되고 있는

데, 용매추출법과 고체상 추출법 또는 직접 주입법 등의 방법을 이용한 HPLC-UV 검출법이 주로 많이 사용되고 있다.<sup>22-24</sup> Ribeiro de Lima 연구팀은 HPLC-UV 검출법을 사용하여 분석한 결과 포도주에서 0.5 - 3.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도를 검출하였다고 보고하였고, Lamuela-Raventos 연구팀은 미국산 적포도주에서 resveratrol의 함량이 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하로 들어있다고 보고하였다.<sup>25-26</sup>

본 연구에서는 resveratrol에 대해 GC/TOF-MS와 GC/MSD를 이용한 분석법을 연구하고 확립된 분석법을 이용하여 대사체를 검출하고 이들과 내인성 스테로이드의 배설양상을 비교하여 이들의 상관성 여부를 가늠해 보고자 하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 시료 채취

본 연구에서 사용된 요시료의 채취를 위해 지원자를 모집하여 선정하였으며, 건강한 성인 2명(27세, 29세)에게 resveratrol을 함유한 Resveratrol 1정 (trans-resveratrol 50 mg/tablet)을 경구 투여시킨 후 약 50시간까지 소변을 채취하였다. 채취된 요시료는 분석 전까지 3 - 5  $^{\circ}\text{C}$  이하에서 냉장보관 하였고, 필요에 따라 일정량을 취하여 사용하였다.

### 2.2. 시약 및 기기

#### 2.2.1. 시약

본 연구에 사용된 resveratrol 약물은 Source Naturals 사 (Scotts Valley, California, USA)에서 판매하는 Resveratrol (trans-3,4',5'-trihydroxystilbene 50 mg/tablet)이었으며, resveratrol 표준물질은 Sigma 사 (Saint Louis, MO, USA) 제품으로써, 10 mg을 메탄올 10 mL에 녹여 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  stock solution을 제조하여 필요에 따라 희석하여 사용하였다. 내부표준물질로 사용한 methyltestosterone 역시 Sigma 사의 제품으로써 10 mg을 메탄올 10 mL에 녹여 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  stock solution을 제조하여 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 희석하여 사용하였다. 시료

전처리에 사용된 Serdolite® PAD-I resin (100-200 µm)은 Serva 사 (Heidelberg, Germany) 제품으로써, 아세트, 메탄올, 증류수로 한 시간씩 활성화시켜 사용하였다. phosphate buffer는 Sigma 사 제품인 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>와 K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>로 pH 6.8 이 되도록 만들어 사용하였고, acetate buffer는 Merck 사 (Darmstadt, Germany) 제품인 CH<sub>3</sub>COONH<sub>4</sub>와 CH<sub>3</sub>COOH로 pH 5.2가 되도록 만들어 사용하였다. 그리고 효소 가수분해에 사용된 α-glucuronidase/arylsulfatase는 Roche Diagnostics 사 (Mannheim, Germany) 제품으로 *Helix pomatia*에서 추출한 것이다. 추출용매로 사용한 methyl tert-butyl ether는 HPLC 등급으로 J.T. Baker 사(Phillipsburg, NJ, USA) 제품을 사용하였다. GC에서 유도체 시약으로 사용된 N-methyl-N-trimethylsilyl-trifluoroacetamide (MSTFA), ammonium iodide (NH<sub>4</sub>I) 및 dithioerythritol (DTE)은 Sigma 사 제품으로 500:4:2 (질량비)의 비율로 혼합하여 냉장 보관하여 사용하였다.

## 2.2.2. 실험기구 및 측정기기

요시료의 액체-액체 추출을 위해 IKA 사(Deutschland, Germany)의 HS501D shaker, 원심분리기는 Hanil Science Industrial Co., Ltd. 사 (Seoul, Korea)의 HA-1000-3을 각각 사용하였고, 시료 혼합을 위해서는 Scientific industry 사 (Bohemia, USA)의 vortex mixer를, 시료 농축을 위해서는 Caliper Life Sciences 사 (Hopkinton, MA, USA)의 Turbopap® LV evaporator를 사용하였다. 유도체화 반응의 온도조절을 위해서 Barnstead International 사 (Dubuque, IOWA, USA)의 Heating block을 사용하였고, 유기용매 층 수거를 위해 사용한 Refrigerated Bath Circulator는 Daeil Biotech사 (Gyeonggi, Korea)의 DTC-311이다. 요시료에서 resveratrol과 그 대사체를 확인하기 위해 Agilent 사 (Santa Clara, CA, USA)의 6890N GC에 Leco 사(St. Joseph, Michigan, USA)의 PEGASUSIII TOF-MS가 장착된 GC/TOF-MS를 사용하였고, 이온화 방법은 EI (electron impact ionization) 방법이었다. 시료의 정량분석을 위해서는 Agilent 사의 6890N GC-5975MSD를 사용하였다. Column은 Ultra-2 (5% phenylmethylsilicone, 30 m × 0.2 mm i.d., 0.33 µm film thickness)를 사용하였다.

## 2.3. 실험방법

### 2.3.1. 시료 전처리

PAD-I Resin을 지름 0.5 cm의 disposable pasteur pipet에 약 3 cm 정도 채운 후 3 mL의 증류수로 충분히

히 세척하여 활성화 시켰다. 요 시료를 활성화된 PAD-I이 충전된 컬럼에 1 mL 씩 5회에 걸쳐 용리시킨 다음 내부 표준물질인 methyltestosterone 10 µg/mL 용액을 50 µL 첨가하였다. 흡착된 컬럼에 같은 양(5 mL)의 증류수로 용리하여 세척시킨 후, 메탄올 4 mL로 추출하였다. 추출된 메탄올을 질소가스로 완전히 증발시킨 후, 그 잔류물에 0.2 M acetate buffer (pH 5.2) 1 mL와 *Helix Pomatia*에서 추출한 β-glucuronidase/arylsulphatase 25 µL을 넣고 55 °C에서 1시간 동안 가수분해 시켰다. 가수분해 후 잔류물을 함유한 시험관을 실온에서 냉각시키고 phosphate buffer를 가하여 pH를 6.8로 조절한 뒤, methyl tert-butyl ether 3 mL을 가한 다음 shaker를 사용하여 10분간 진탕시켜 추출하였다. 이 혼합용액을 450 G에서 5분간 원심분리하고 -30 °C의 냉동기를 이용하여 유기용매 층을 수거한 뒤 질소 가스로 완전히 증발시킨 후, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, Silica gel 및 KOH가 들어 있는 desiccator에서 30분 동안 방치하여 잔류 수분을 제거해 건조한 추출물을 얻었다.

### 2.3.2. 기기 분석 방법

요시료로부터 추출한 성분들을 실릴(silyl) 유도체화시키기 위해 MSTFA/NH<sub>4</sub>I/DTE (500:4:2) (질량비) 혼합용액 50 µL을 가하여 60 °C에서 15분 동안 유도체화시켜 GC/TOF-MS 및 GC/MSD에 2 µL을 주입하였다. 이때 사용된 GC의 측정조건은 다음과 같다. 운반기체는 He (99.9999%)를 사용하였으며, 유속은 0.5 mL/min으로 하였다. 컬럼 온도는 초기온도 180 °C에서 280 °C까지 25 °C/min 속도로, 그 후 285 °C까지는 1 °C/min 속도로, 320 °C까지 25 °C/min 속도로 온도를 올리고 1분 동안 유지시켰다. 주입구와 검출기의 온도는 280 °C이었고, source 온도는 230 °C였으며, 시료주입은 split mode (1:10)를, 이온 검출 방법은 selected ion monitoring (SIM) 모드를 사용하였다. TOF-MS는 Scan rate 10 spectra/sec으로 m/z 50 - 600의 이온 범위에서 사용하였다.

### 2.3.3. 유효성 시험

Resveratrol과 내인성 스테로이드의 유효성을 검증하기 위해 바탕요시료에 resveratrol과 8 가지 내인성 스테로이드를 4 - 9 개의 다른 농도로 첨가하여 2.3.1의 시료 전처리 방법과 동일하게 처리 하였고, 기기분석은 2.3.2로 시행하였다. 회수율 시험은 바탕 요시료에 1 - 30000 ng/mL이 되도록 resveratrol과 8종의 내

인성 스테로이드를 첨가한 시료를 5회 측정하였으며, 정확도와 정밀도의 측정을 위하여 Intra-day는 6시 간격으로 3회, 그리고 Inter-day 시험은 2일 간격으로 3차례 시행하였다. 이때 1회 시험당 5시료를 동시에 진행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 분석방법의 유효성 검증

확립된 분석법의 유효성을 검증하기 위하여 회수율(recovery), 정밀도(precision), 정확도(accuracy) 그리고 직선성(linearity)을 조사하였다. 검출농도 범위가 비교적 넓은 물질은 검량선을 2-3개 작성하여 정량분석하였으며, 이 때의 분석대상물질에 대한 정량 이온 및 머무름 시간은 Table 1에 나타내었다. resveratrol과 내인성 스테로이드들은 모두 Table 2에 나타난 바와 같이 0.9962 이상의 직선성을 나타내었고, 회수율은 resveratrol이 97.15%로 나타났다. 그리고 내인성 스테로이드들은 96.47 - 114.74%로 조사되었다. Intra-day 시험결과는 Table 2와 같이, resveratrol의 경우 정밀도는 2.75 - 4.36%, 정확도는 84.5 - 112.4%를 나타내었고, 내인성 스테로이드들의 경우 정밀도는 1.4 - 10.87%, 정확도는 80.03 - 119.92%로 조사되었다. 그리고 Inter-day 시험결과는 resveratrol의 경우 정밀도는 2.6 - 4.79%, 정확도는 81.51 - 113.3%를 나타내었으며, 내인성 스테로이드의 경우 정밀도는 1.1 - 10.93%, 정확도는 80.02 - 119.56%로 나타났다. 한편, 검출한계와 정량한계는 신호 대 잡음 비율(signal to noise ratio, S/N)을 각각 3과 10으로 하여 산출하였으며, 그 범위는 각각 0.07 - 27.27 ng/mL, 그리고 0.23 - 90.0 ng/mL의 분포로 조사되었다. 이러한 결과로 본 시험

의 시료 전처리 및 기기 분석법에 대한 유효성을 확인할 수 있었다.

#### 3.2. Resveratrol 대사체 검출

Resveratrol의 체내 변화를 알아보기 위하여 GC/TOF-MS를 이용하여 대사체 연구를 시행하였다. Fig. 1은 3-TMS-resveratrol ( $m/z$  444)와 3-TMS-resveratrol-M ( $m/z$  446)의 EIC와 mass spectrum을 나타내었다. Fig. 1(a)를 보면, cis-resveratrol과 trans-resveratrol의 머무름 시간은 각각 6.35 분, 10.35 분에 검출되었으며, (b)를 보면, 6.53분에 대사체로 추정되는 peak가 검출되었다. Fig. 1(c)와 (d)에 이들의 질량 스펙트럼을 나타내었다. 유도체화 반응을 거쳐 3개의 OH기가 OTMS기로 치환된 resveratrol의 모분자  $[M]^+$  이온의  $m/z$  444 그리고 메틸기가 떨어져 나간  $[M-CH_3]^+$  이온의  $m/z$  429, OTMS기가 떨어져 나간  $[M-OTMS]^+$  ( $m/z$  355) 이온,  $[M-2OTMS]^+$  ( $m/z$  267) 이온이 검출되었다. EI 방법으로 이온화 시켰으나 토막이온의 생성이 미미한 것을 확인하였는데, 이는 resveratrol이 전체적으로 conjugated structure을 가지기 때문에 결합에너지가 높아 토막이온이 많이 생성되지 않는 것으로 판단된다. 반면, 3-TMS-resveratrol-M (Fig. 1(d))에서는  $m/z$  179 이온과  $m/z$  267 이온이 검출되는 것을 확인하였는데, 이는 중앙에 위치한 단일 결합이 끊어져 생성된 것으로 이중결합이 환원되면서 conjugated structure가 아닌 단일결합의 형태로 되기 때문에 resveratrol과는 다르게 토막이온이 생성된 것으로 판단된다.

#### 3.3. Resveratrol과 내인성 스테로이드와의 상관관계

Resveratrol이 estradiol과 결합되어 에스트로겐의 특성에 영향을 미친다는 기존의 연구 결과<sup>20-22</sup>에 따라 이 화합물의 경구투여로 인한 내인성 스테로이드 분비 패턴변화에 대한 조사를 진행하였다. resveratrol을 복용한 후, resveratrol 및 그 대사체와 내인성 스테로이드를 대상으로 GC/MSD의 SIM mode를 이용하여 0시간에서 약 50시간까지 시간 별로 배설농도를 조사하였다. Resveratrol과 그 대사체 및 estradiol과 7가지 내인성 스테로이드들에 대해 농도를 조사하였으며, resveratrol은 cis-form과 trans-form을 각각 정량 분석하여 합으로 나타내었고, 대사체는 표준물질을 확보할 수 없어 대사체의 피크 넓이를 내부표준물질의 피크 넓이로 나눈 비율을 경과 시간에 대해 나타내었다. Fig. 2에 resveratrol과 그 대사체의 배설양상을 나타내

Table 1. Quantitative ion and retention time of resveratrol and endogenous steroids for GC/MSD

Compounds	$m/z$	Rt (min)
Resveratrol	419 <b>444</b>	6.27
Resveratrol-M	<b>179</b> 267 446	6.42
Etiocholanolone	329 419 <b>434</b>	7.49
Androsterone	329 419 <b>434</b>	7.56
Dehydroepiandrosterone	327 417 <b>432</b>	8.33
Epitestosterone	327 417 <b>432</b>	8.57
Estrone	399 <b>414</b>	8.81
Androstenedione	415 <b>430</b>	8.95
Estradiol	285 <b>416</b>	9.07
Testosterone	417 <b>432</b>	9.13
Methyltestosterone	<b>301</b> 446	10.03

Table 2. Recovery, linearity, limits of detection and quantification precision and accuracy data for measurement of resveratrol and endogenous steroids

Compounds Added amount (ng/mL)	Recovery (n=5) (%)	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)	Linearity	Intra-day (n=15)		Inter-day (n=15)		
					RSD (%)	Accuracy (%)	RSD (%)	Accuracy (%)	
Resveratrol									
10				0.9995	4.36	87.81	4.21	81.51	
1000	97.15	0.53	1.75	0.9983	2.75	84.5	4.79	108.78	
10000				0.9994	3.04	112.4	2.6	113.3	
Etiocholanolone									
100				0.9949	6.52	119.3	7.97	90.87	
5000	111.76	27.27	90	0.9994	3.74	103.82	4.68	108.3	
30000					1.4	83.09	3.62	80.02	
Androsterone									
10					9.59	93.9	6.7	92.15	
100	105.15	0.16	0.52	0.9995	6.15	81.74	10.93	93.29	
500					3.37	80.03	1.1	100.1	
DHEA									
10				0.9979	10.87	119.53	5.48	118	
500	114.74	2.12	7	0.9997	2.65	105.73	8.09	112.54	
5000					2.65	80.58	3.54	85.47	
Epitestosterone									
1					1.84	103.35	10.87	102.41	
10	101.42	0.27	0.89	0.9995	6.29	93	7.28	103.88	
50					7.6	102.93	3.01	113.12	
Estrone									
1					5.5	119.92	8.7	118.66	
10	103.7	0.28	0.91	0.9995	7.71	82.05	1.78	87.97	
50					6.56	96.01	6.29	101.79	
Androstenedione									
10				0.9998	8.65	100.19	6.3	93.93	
200	96.47	0.4	1.31	0.9962	2.51	80.55	3.99	88.69	
1000					10.47	100.05	5.48	119.56	
Estradiol									
1					5.9	93.12	9.8	105.02	
5	108.93	0.07	0.23	0.9997	6.72	100.36	5.08	114.98	
10					10.62	104.19	4.51	113.28	
Testosterone									
1					2.24	119.71	9.48	104.12	
10	104.5	0.19	0.64	0.9997	4.74	89.02	7.97	103.4	
50					6.66	117.32	3.12	117.46	

#### DHEA-Dehydroepiandrosterone

었다.

그림에서 보는 바와 같이 지원자들의 요시료 내 resveratrol과 그 대사체는 경구투여 후 최대 배설량이 1-2 시간 범위에서 나타나는 일반적인 약물과는 달리

10-15 시간 범위에서 최대 배설량이 나타났으며, 30 시간 후에는 그 양이 급격히 감소하였다. Resveratrol과 그 대사체의 배설량을 비교하여보면, 남성의 경우 resveratrol의 배설량이 높은 반면 여성의 경우에는 대

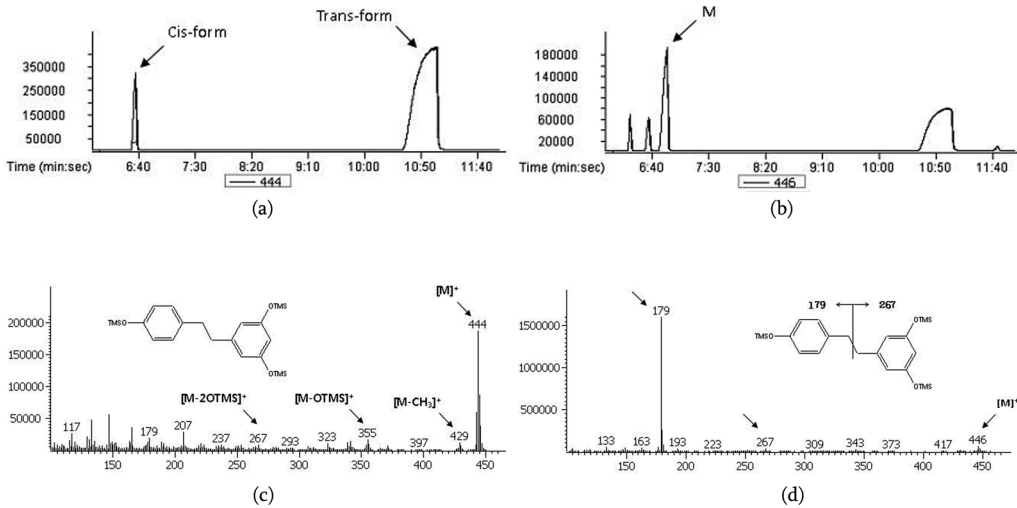


Fig. 1. Extracted ion chromatograms of 3-TMS-resveratrol (a) and 3-TMS-resveratrol-M (b) mass spectrum of 3-TMS-resveratrol (c) and 3-TMS-resveratrol-M, (d) in human urine by GC/TOF-MS.

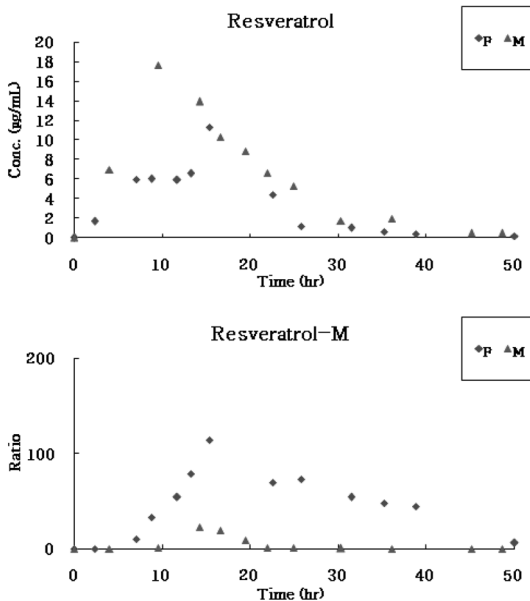


Fig. 2. Excretion study of resveratrol and its metabolite in urine of female and male.

사체가 높게 나타나는 다소 다른 경향을 보였기 때문에 여성의 경우가 남성보다 resveratrol에 대한 활성도가 높은 것으로 추측된다. 이로써 여성 호르몬에 영향을 미친다는 Gehm 연구팀의 연구결과와 상관관계가 있음을 추측할 수 있었다.<sup>20</sup>

한편, resveratrol 및 그 대사체와 내인성 스테로이드의 상관관계를 알아보기 위하여 8가지 내인성 스테로이드

드들의 변화를 조사하여 Fig. 3에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 내인성 스테로이드들의 배설량 변화는 남성과 여성에 따라 다소 차이는 있었지만, 전체적으로 약물 복용 후의 분비형태가 resveratrol과 비슷한 양상을 보였으며, 특히 estrone과 estradiol의 경우, resveratrol과의 상관관계를 조사한 결과, 다중 상관 계수가 0.676, 0.702로 어느 정도 상관성이 있음을 나타내었다. 또한, 큰 변화를 보이지 않는 남성에 비해 여성은 estrone과 estradiol의 분비가 상승하는 결과를 보여 resveratrol은 여성에게 약리활성이 높은 것으로 추정된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 GC/TOF-MS 및 GC/MS로 resveratrol을 인체에 경구투여 한 후 채취한 요시료 중 에 함유된 resveratrol과 그 대사체를 분리하는 분석법을 연구하고 확립된 방법을 이용하여 스테로이드 대사에 미치는 영향을 개략적으로 판단해보고자 하였다. GC/TOF-MS로 확인된 대사체는 두 개의 phenyl기를 연결하는 이중결합이 단일결합으로 환원된 구조로 추정되었다. 또한, GC/MSD를 이용하여 성별이 다른 두 지원자에게 resveratrol을 경구투여 한 후, 채취한 요시료로부터 resveratrol과 그 대사체에 대한 상관성을 조사한 결과, 요 중 최대농도 도달시간은 1-2 시간 범위에서 나타나는 일반적인 약물과는 달리 10-15 시간 범위에서 나타났으며, 대사체로의 전환율은 남성보다 여성이 높게 나타났다. 한편, 내인성 스테로이드는 약

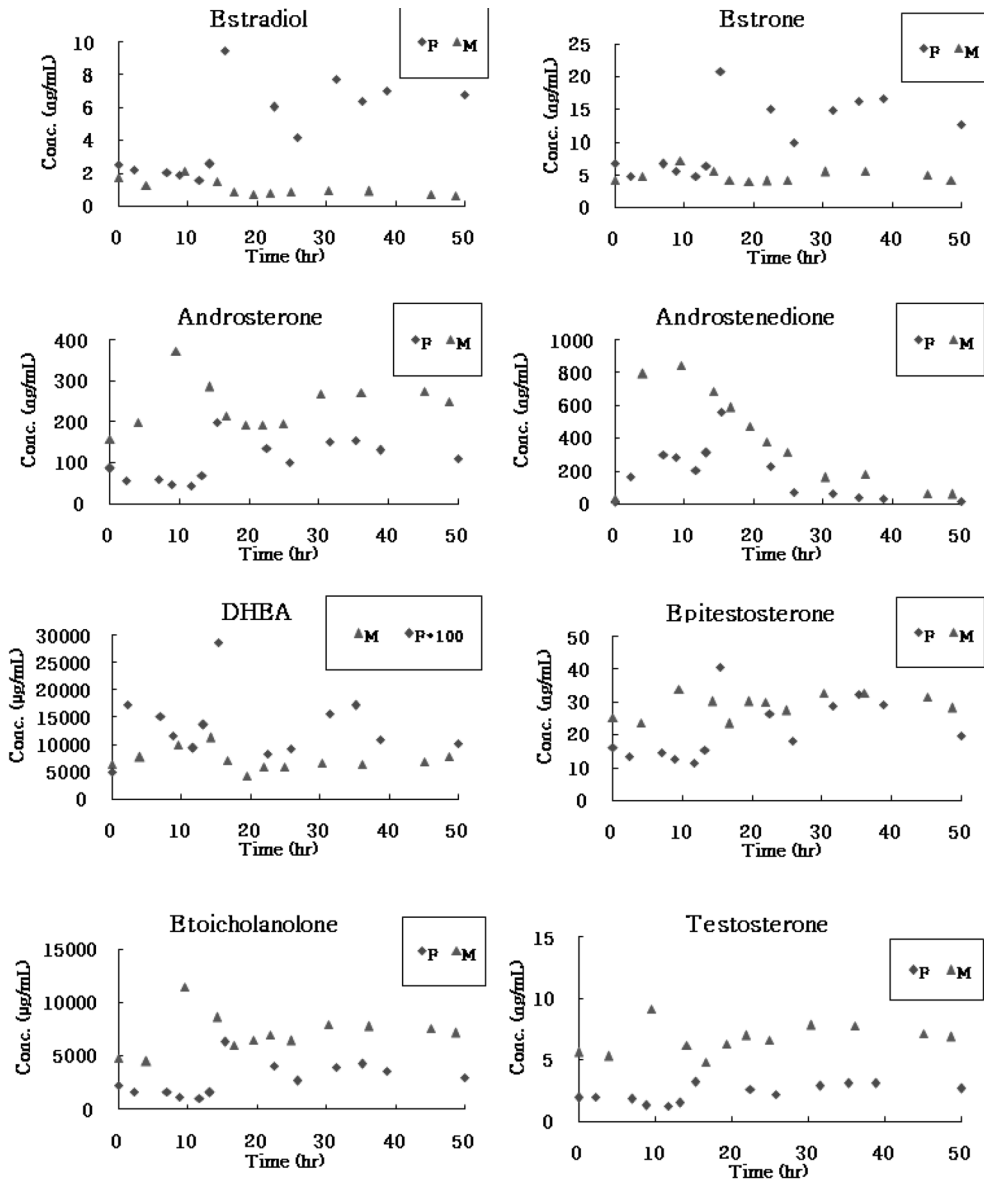


Fig. 3. Excretion study of endogenous steroids in urine of female and male.

물 복용 후 20시간까지는 resveratrol 및 그 대사체와 다소 유사한 분비형태를 나타내었으며, estrone과 estradiol의 경우 여성이 남성에 비해 높게 나타났다. 따라서 resveratrol은 여성호르몬과 어느 정도 상관관계에 있으며, 약물의 활성이 남성보다는 여성에게 유의한 영향을 미치는 것으로 추정할 수 있었다. 이 결과는 보다 많은 시료를 확보하여 심도 깊은 연구가 필요하지만 본 연구에서는 resveratrol의 분석법으로 이와 같은 연구에 어느 정도 기여가 가능한지 판단하

고자 하였기 때문에 resveratrol의 약리활성에 대한 연구는 추후 진행되어야 할 것이다.

### 참고문헌

1. M. Careri, C. Corradini, L. Elviri, I. Nicoletti and I. Zagnoni, *J. Agric. Food. Chem.*, **52**, 6868-6874(2004).
2. P. Neuz, P. Vanda, J. C. Marques and J. S. Camara, *J. Sep. Sci.*, **31**, 2189-2198(2008).

3. E. Ignatowicz and W. Baer-Dubowska, *Pol. J. Pharmacol.*, **53**, 557-569(2001).
4. E. Revilla and J. M. Ryan, *J. Chromatogr. A*, **881**, 461-469(2000).
5. Vassilis G. Dourtoglou, Dimitrios P. Makris, Fabienne Bois-Dounasand and Christophoros Zonas, *J. Food Compos. Anal.*, **12**, 227-233(1999).
6. J. Gruber, S. Y. Tang and B. Halliwell, *Ann. NY Acad. Sci.*, **1100**, 530-542(2007).
7. T. M. Bass, D. Weinkove, K. Houthoofd, D. Gems and L. Partridge, *Mech. Ageing. Dev.*, **128**, 546-552(2007).
8. D. R. Valenzano, E. Terzibasi, T. Genade, A. Cattaneo, L. Domenici and A. Cellerino, *Curr. Biol.*, **16**, 296-300(2006).
9. J. G. Wood, B. Rogina, S. Lavul, K. Howitz, S. L. Helfand, M. Tatar and D. Sinclair, *Nature*, **430**, 686-689(2004).
10. C. R. Pace-Asciak, O. Rounova, S. E. Hahn, E. P. Daimandis and D. M. Goldberg, *Clin. Chim. Acta.*, **246**, 163-182(1996).
11. M. V. Clement, J. L. Hirpara, S. H. Chawdhury and S. Pervaiz, *Blood.*, **92**, 996-1002(1998).
12. D. M. Goldberg, J. Yan and G. J. Soleas, *Clin. Biochem.*, **36**, 79-87(2003).
13. J. J. Cullen, C. Weydert, M. M. Hinkhouse, J. Ritchie, F. E. Domann, D. Spitz and L. W. Oberley, *Cancer Res.*, **63**, 1297-1303(2003).
14. E. Wenzel and V. Somoza, *Mol. Nutr. Food. Res.*, **49**, 472-481(2005).
15. Y. J. Surh, *Mutat. Res.*, **428**, 305-327(1999).
16. T. L. Zern, R. J. Wood, C. Greene, K. L. West, Y. Liu, D. Aggarwal, N. S. Shachter and M. L. Fernandez, *Nutrition*, **13**, 1911-1917(2005).
17. J. J. Anderson and S. C. Garner, *Bailliere Clin. Endocrinol. Metabol.*, **12**, 543(1998).
18. M. W. Edward, S. D. Bain, M. C. Bailey, M. M. Lantry and G. A. Howard, *Bone*, **13**, 29(1992).
19. L. J. Murphy and A. Ghahary, *Endocrine Reviews*, **11**, 443(1990).
20. B. D. Gehm, J. M. McAndrews, P. Y. Chien and J. L. Jameson, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 14138(1997).
21. R. Lu and Serrero, G., *J. Cell. Physiol.*, **179**, 297(1999).
22. M. J. Zhou, X. Y. Chen and D. F. Zhong, *J. Chromatogr. B*, **854**, 219(2007).
23. R. González-Barrio, M. L. Nidal-Guevara, F. A. Tomás-Barberán and J. C. Espín, *Innovat. Food. Sci. Emerg. Tech.*, **10**, 374-382(2009).
24. L. S. Cai, J. A. Koziel, M. Dharmadhikari and J. H. Leeuwen, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 281(2009).
25. M. T. Ribeiro de Lima, P. Waffo-Teguo, P. L. Teissedre, A. Pujolas, J. Vercauteren, J. C. Cabanis and M. Merillon, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2666(1999).
26. R. M. Lamuela-Raventos and A. L. Waterhouse, *J. Agric. Food. Chem.*, **41**, 521(1993).