

머위 추출물이 알코올 투여한 흰쥐의 간조직 내 항산화 체계에 미치는 영향

조배식¹ · 이재준² · 이명렬^{2*}

¹광주광역시보건환경연구원

²조선대학교 식품영양학과

Effects of Ethanol Extracts from *Petasites japonicus* S. et Z. Max. on Hepatic Antioxidative Systems in Alcohol Treated Rats

Bae Sick Cho¹, Jae Joon Lee² and Myung Yul Lee^{2*}

¹Gwangju Institute of Health and Environment, Gwangju 502-837, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

This study investigated the hepatoprotective effects of an ethanol extract of *Petasites japonicus* S. et Z. Max. (PJ) on alcohol-induced liver-damaged rats. Sprague-Dawley rats weighing 100~150 g were divided into 5 groups; normal diet group (NOR), alcohol (35%, 10 mL/kg/day) treated group (CON), PJ 200 mg/kg/day treated group (PJ1), PJ 200 mg/kg/day and alcohol treated group (PJ2), and PJ 400 mg/kg/day and alcohol treated group (PJ3). The growth rate of the control group was higher than that of normal group, whereas the group administered PJ concomitantly was significantly increased. Also, feed efficiency ratio decreased by alcohol administration was gradually increased to the adjacent level of the normal group by administering PJ. The AST activity in serum elevated by alcohol was significantly decreased by administering the high dosage of PJ, but exerted no significant change on serum ALT activity. It was also observed that the hepatic activities of catalase and GSH-Px increased by alcohol were markedly decreased in PJ2 and PJ3, but not in the activities of XO and SOD as compared with the control group. The depleted content of GSH by alcohol was increased to the level of normal group by administering PJ in a dose-dependant manner. In conclusion, these results suggest that PJ may have a possible protective effect on liver function in hepatotoxicity-induced rat by alcohol administration.

Key words: *Petasites japonicus* (PJ) S. et Z. Max., alcohol, hepatotoxicity, antioxidative enzymes, glutathione

서 론

만성적으로 과량 섭취된 알코올은 알코올의 대사산물인 acetaldehyde에 의해 유리 라디칼(free radical)을 생성하여 지질과산화물을 형성하고 그로 인해 간세포 파괴 및 섬유화에 관여한다고 알려져 있다(1). 즉 알코올 대사산물은 체내 산소를 활성화시켜 독성이 매우 강한 superoxide anion(O₂^{·-})으로 전환시키는데, 이들 superoxide anion은 다시 과산화수소(H₂O₂), hydroxyl radical(·OH) 및 ¹O₂(singlet oxygen)로 전환되어진다. 이들 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 산화력이 매우 강하기 때문에 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유발하게 된다(2).

활성산소들은 생체 내 superoxide dismutase(SOD), catalase, xanthine oxidase(XO), glutathione peroxidase(GSH-Px) 등 free radical scavenger 역할을 하는 항산화효소와

vitamin E, β-carotene, vitamin C, lipoic acid, selenium (Se), glutathione(GSH) 및 uric acid 등 항산화물질에 의해 대부분이 소거되지만, 과량의 활성산소나 지속적인 활성산소 생성으로 항산화 방어계의 균형이 깨지게 되면 각종 질환을 일으키게 된다. 이와 같이 신체는 이러한 산화적 스트레스로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한 항산화 기전이 존재하는데 그 중 하나는 항산화효소에 의한 효소적 방법이고, 나머지는 생체 내 여러 가지 항산화물질과 식이를 통하여 공급되는 항산화 비타민이나 체내 생리활성 물질로 알려진 polyphenol류와 같은 항산화제에 의한 비효소적 방법이다. 그러나 신체는 항산화 방어체계를 구축하여 스스로를 보호하지만 항산화 체계가 약화되거나 산화적 스트레스가 가해질 때 증가되는 활성산소종에 대항하기는 역부족 상태에 놓이게 된다(2-4).

따라서 항산화 성분의 섭취나 항산화효소 활성 증가 등으로 체내 항산화 효능을 증진시키는 것은 누적되는 산화적

*Corresponding author. E-mail: mylee@mail.chosun.ac.kr
Phone: 82-62-230-7722, Fax: 82-62-225-7726

손상에 저항하기 위해서 매우 중요한 것으로 보고(5,6)되고 있으며, 더불어 항산화물질은 함유한 천연 자원에 대한 관심도 증가되고 있다. 이로 인하여 생체 내 유리 라디칼의 생성을 억제하는 것이 질병예방을 위한 중요한 과제로 대두되고 있으며, 생체 내 유리 라디칼의 생성을 억제하는 항산화물질에 대한 연구(7,8)가 다양하게 수행되고 있다.

머위(*Petasites japonicus* S. et. Z. Max.)는 우리나라의 제주도, 울릉도, 남부지방 및 중부지방의 습지에서 자생하는 국화과에 속하는 다년생 초본식물(9), 예로부터 어린잎을 채취하여 쌈과 생채로 이용하거나 열병은 나물로 이용하고 말려서 탕의 재료로 이용하였고, 민간요법이나 한방에서는 세운을 건조한 후 달여서 마시거나 태워 연기를 쏘이는 방법으로 기침, 기관지 천식, 태독의 치료 등으로 이용하였으며, 일부 지역에서는 열병을 뫼나무에 의한 알레르기 치료의 민간약으로도 사용되어왔다. 또한 머위의 잎과 줄기에 다량 함유된 polyphenol류의 쓴맛과 정유성분의 향기 및 독특한 질감은 한국인들의 기호에 적합하여 기호식품으로 널리 애용되고 있다(10).

머위에 관한 연구로는 머위 잎에는 petasinophenol(11), flavonoid glycosides(12), phenylprophenoyl sulfonic acid(13) 및 fukinolic acid(14)와 같은 다양한 항산화물질을 함유하고 있으며, *in vitro* 연구에서 RBL-2H3 세포로부터 hexoaminidase의 방출 억제효과를 측정하여 머위 추출물의 항알레르기 효과를 확인하였다(15). 머위 메탄올 추출물로부터 분리한 [3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-oxopropyl] ester는 U937 세포주의 etoposide에 의한 caspase-3 유도 저해활성 및 DNA fragmentation에 대한 저해작용을 보였으며, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능이 있다고 보고하여 머위 추출물이 apoptosis 억제효과와 항산화효과를 보았다(16). 머위의 꽃에서 분리한 caffeic acid도 DPPH 라디칼 소거능을 보여 항산화효과가 있음을 보고하였다(17). Cho 등(18)도 머위 메탄올 추출물이 DPPH 유리 라디칼 소거효과와 지질과산화 억제효과가 L-ascorbic acid보다도 높았다고 보고하였다.

최근 자연계에 존재하는 다양한 동·식물 및 미생물로부터 얻어지는 각종 생리활성성분이 인체의 생리 기능 조절 및 항상성을 유지하여 당뇨병, 고혈압, 노화억제 등 성인병의 예방과 치료에 유효한 것으로 밝혀짐에 따라 이들을 식품소재로 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(19-21). 우리나라에서도 천연 야생식물의 다양한 생리활성 기능이 보고되면서 이들을 원료로 한 각종 기능성식품 제조가 증가하고 있는데(22,23), 이와 같이 국내의 고유 전통식품이나 천연 자원 및 부산물로부터 기능성을 갖는 다양한 물질을 탐색하여 이들을 식품으로 개발함은 부존자원의 효율적인 이용과 국민보건 증진에 기여할 수 있다고 판단된다(24). 이처럼 천연 야생식물을 식품 재료화하여 기능성식품의 신소재로 개발하기 위해서는 식품학적 및 체계적인 생리활성 실험 등

과학적인 접근이 필요하다.

따라서 본 연구는 머위 추출물이 체내 항산화효소에 미치는 영향을 구명하고자 흰쥐에게 만성적인 알코올 투여로 손상된 간조직에 머위 에탄올 추출물이 미치는 영향을 검토하여 성인병 치료의 보조요법이나 예방을 위한 기능성 물질로 이용하기 위한 기초 자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료 추출

2004년 5월 전남 광양지역 야산에 자생하는 머위의 잎과 줄기를 채취하고 전남 광양군 소재 농업기술센터에서 *Petasites japonicus* S. et. Z. Max.로 검증받은 후 수세하여 유진한 것을 분쇄 후 실험재료로 사용하였다. 건조된 머위 100 g과 EtOH:H₂O(80:20 v/v) 500 mL로 혼합하고 65°C에서 환류냉각기를 부착하여 2시간씩 3회 추출 후 여과지로 여과하였다. 여액을 합하여 40°C에서 rotary vacuum evaporator(R-144, Buchi, Switzerland)로 감압·농축하고 -70°C에 냉동보관하면서 시료로 사용하였다.

실험동물 사육 및 식이

조선대학교 실험동물센터에서 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 공급받아 1주일간 고형 배합사료(삼양사료)와 물로 적응시킨 후 체중이 100~150 g인 것을 난교법으로 8마리씩 5군으로 분류하여 6주간 사육하였다. 실험식은 AIN-93을 기준(25)으로 조제하였으며, 실험군은 Table 1과 같이 정상군(NOR), 알코올 투여군(35% 에탄올 10 mL/kg, b.w./day, CON), 머위 에탄올 추출물 200 mg/kg 투여군(PJ1), 머위 에탄올 추출물 400 mg/kg 및 알코올 병합투여군(PJ2), 머위 에탄올 추출물 400 mg/kg 및 알코올 병합투여군(PJ3)으로 나누어 실시하였다. 머위 에탄올 추출물 투여 용량은 예비 실험을 토대로 독성이 나타나지 않은 수준인 흰쥐 체중 kg 당 200 mg과 400 mg이 함유되도록 생리식염수에 조제한 시료를, 알코올은 Fujii 등(26)의 방법에 준하여 35% 에탄올을 체중 kg 당 10 mL를 투여하였으며, 정상군은 동일한 양의 생리식염수를 경구 투여하였다. 실험기간 중 동물의 상태를

Table 1. Composition of experimental diet

Group	Diet composition
NOR	Basal diet ¹⁾
CON	Basal diet+EtOH ²⁾
PJ1	Basal diet+PJL ³⁾
PJ2	Basal diet+PJL+EtOH
PJ3	Basal diet+PJH ⁴⁾ +EtOH

¹⁾ According to AIN-93 diet composition (25).
²⁾ EtOH: ethanol 35% (10 mL/kg, b.w./day, p.o.) treated group.
³⁾ PJL: *Petasites japonicus* ethanolic extract (200 mg/kg, b.w./day, p.o.) treated group.
⁴⁾ PJH: *Petasites japonicus* ethanolic extract (400 mg/kg, b.w./day, p.o.) treated group.

관찰하면서 체중은 1주일 간격으로, 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였으며, 사육기간의 체중증가량을 동일 기간의 식이섭취량으로 구분하여 각 실험군의 식이효율을 구하였다.

혈액과 장기의 채취

실험동물은 처치 전 18시간 동안 절식시킨 후 CO₂로 가법게 마취시킨 다음, 개복하고 복부 대동맥에서 채혈하여 4,500×g에서 20분간 원심분리 후 분리한 혈청을 ALT 및 AST 활성 측정에 사용하였다. 혈액을 채취한 후 얼음위에서 즉시 간을 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부작물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 효소 활성 저해를 예방하기 위하여 급속 동결하여 -70°C의 deep freezer에 보관하면서 항산화 관련 효소 활성 및 항산화능력 측정에 사용하였다.

혈청 중 AST 및 ALT 활성 측정

혈청 aminotransferase 활성은 Reitman과 Frankel의 방법(27)으로 조제된 혈청 transaminase 측정용 kit(Shinyang Co., Seoul, Korea)를 사용하여 ALT 및 AST 활성을 측정하였고 단위는 혈청 mL 당 Karmen unit로 표시하였다.

간조직 중 항산화 효소계의 활성 측정

간조직 1 g 당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하고 4°C에서 ultra turax homogenizer(Janke & Kunkel, Germany)로 10,000×g에서 마쇄한 후, 마쇄액은 600×g 4°C에서 10분간 원심분리하여 핵과 미마쇄 부분을 제거한다. 상정액을 15,000×g에서 20분간 다시 원심분리하였다. 상정액을 취하여 xanthine oxidase(XO), superoxide dismutase(SOD), catalase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였다. XO 활성은 Downey 등의 방법(28), SOD 활성은 Crapo 등의 방법(29), catalase 활성은 Aebi의 방법(30), GSH-Px 활성은 Flohe 등의 방법(31)으로 측정하였다.

간조직 중 과산화지질 함량 분석

과산화지질(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량 측정은 Buege와 Aust의 방법(32)에 따라 균질화한 간조직의 단백질을 일정하게 맞춘 다음 TBA 시약(0.375% TBA in 0.25 N HCl)에 butylated hydroxytoluene(BHT)의 최종 함량이 0.01%가 되도록 균질액에 첨가하여 잘 혼합한 후 98°C로 15분간 가열한 다음 즉시 냉각시켜 1,500×g로 15분간 원심분리하였다. 상정액의 흡광도는 535 nm에서 측정하였는데, TBA법을 사용하여 malondialdehyde(MDA) 함량으로 과산화지질 함량을 정량하였다.

간조직 중 GSH 함량 측정

간조직 중 GSH 함량은 Tietze의 방법(33)을 약간 변형하여 사용하였다. 간조직 0.1 g과 10배(w/v)의 5%(w/v) sulfosalicylic acid(SSA) 2 mL를 첨가하여 마쇄한 다음 10,000

×g에서 10분간 원심분리한 후 상정액을 GSH 함량 측정을 위하여 사용하였다. 시험관에 working buffer 700 µL, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 100 µL, 20 µL 시료액 및 180 µL 증류수를 가하여 30°C에서 3분간 방치한 후 GSSG reductase 용액 5 µL를 첨가하고 412 nm에서 1분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다. 0.04 mM GSH를 제조하여 standard curve를 그린 후 흡광도에 대한 농도를 환산하였다.

단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법(34)에 의하여 bovine serum albumin(Sigma, A-2153)을 표준물질로 하여 측정하였다.

통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 통계 package를 이용하여 실험군 당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 p<0.05 수준에서 Tukey's test에 의하여 각 실험군의 평균치 간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

체중증가율과 식이효율

머위 에탄올 추출물과 알코올을 6주간 투여한 흰쥐의 체중증가율 및 식이효율은 Fig. 1과 Table 2와 같다.

Fig. 1에서와 같이 체중증가율은 실험 6주에서 알코올을 투여한 대조군(CON)이 2.79±0.06으로 정상식이만을 급여한 정상군(NOR)의 2.91±0.06에 비하여 유의차는 없었으나 저하되었다. 머위 에탄올 추출물과 알코올을 병합 투여한 군(PJ2, PJ3)은 알코올 투여로 둔화된 체중증가율이 유의하게 증가되었는데, 이와 같은 체중증가율은 5주부터 뚜렷한 차이를 보였다. Table 2에서와 같이 식이효율은 CON군을

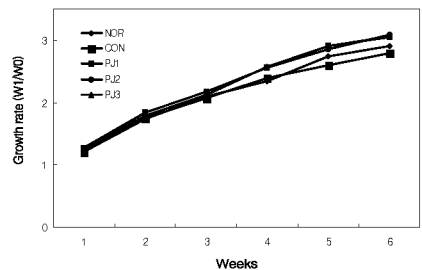


Fig. 1. Growth rates in alcohol and/or *Petasites japonicus* ethanolic extract administered rats.

Growth rate (W1/W0): ratio of the body weight (W1) to initial body weight (W0). Values are mean±SE of 8 rats per each group. Groups are the same as in Table 1.

Table 2. Feed efficiency ratio in alcohol and/or *Petasites japonicus* ethanol extract administered rats

Group ¹⁾	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Feed efficiency ratio ²⁾
NOR	3.01±0.21 ^{3NS4)}	21.50±2.42 ^{NS}	0.14±0.002 ^{4d)}
CON	2.84±0.39	25.81±3.98	0.09±0.005 ^{b)}
PJ1	3.03±0.18	21.64±1.84	0.14±0.008 ^{a)}
PJ2	2.86±0.40	22.00±2.06	0.13±0.005 ^{a)}
PJ3	2.91±0.22	20.79±2.41	0.14±0.009 ^{a)}

¹⁾Groups are the same as in Table 1.
²⁾Feed efficiency ratio: FER (body weight gain/food intake).
³⁾Values are mean±SE of 8 rats per each group.
⁴⁾NS: not significantly different among groups.
⁵⁾Values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

제의하고는 모두 유사하였다. CON군은 타 실험군들에 비하여 식이효율이 유의하게 감소되었는데, 이 결과는 알코올 만성 섭취 시 장 점막 손상으로 인한 영양소 흡수를 저하, 고열량 공급으로 인한 식사량 감소, 알코올 섭취로 인한 산소 소비량 증가 및 알코올 산화 에너지의 비효율적인 이용 등 복합적인 요인에 의한 것으로 판단된다(35,36). 본 실험에서 알코올 투여로 감소된 흰쥐 체중과 식이효율이 머위 에탄올 추출물 투여로 NOR군에 근접하게 상승되었는데, 이 결과에서 머위의 에탄올 추출물에는 알코올 섭취로 인한 간세포 독성의 해독 및 완화 기능을 가지는 생리활성물질이 함유된 것으로 추정된다.

혈청 중 ALT 및 AST 활성

머위 에탄올 추출물과 알코올을 6주간 투여하여 측정된 흰쥐의 혈청 중 ALT와 AST 활성은 Table 3과 같다.

Table 3에서와 같이 혈청 중 ALT 활성에서, PJ1군은

80.51±5.03 unit로 NOR군의 79.52±3.30 unit와 유사하였고 CON군은 87.74±4.11 unit로 NOR군에 비하여 유의적인 증가를 나타내었으며 PJ2군과 PJ3군은 84.55±2.18 unit와 82.41±3.22 unit로 CON군에 비하여 감소는 되었으나 유의적인 변화는 없었다.

혈청 중 AST 활성은 PJ1군이 156.30±7.23 unit로 NOR군의 154.90±5.35 unit와 유사하였으나 알코올만을 단독 투여한 CON군은 164.08±6.95 unit로 NOR군에 비하여 유의하게 증가되었고, 알코올과 머위 에탄올 추출물 저용량 병합투여한 PJ2군은 162.11±11.50 unit로 유의적인 변화를 나타내지 않았으나 고용량 병합투여한 PJ3군은 155.42±16.38 unit로 활성이 감소되어 NOR군의 수치에 근접하였다. 본 실험에서 알코올 투여로 ALT와 AST 활성이 증가되었음은 Koo 등(37)이 보고한 마와 같이 지질대사 장애로 간세포의 괴사 및 파괴가 진행됨에 따라 간 중의 aminotransferase가 혈중으로 유출된 결과로 판단되며, 머위 에탄올 추출물이 알코올 투여로 증가된 AST 활성을 정상식이만을 급여한 NOR군에 근접되게 감소시켰음은 머위가 손상된 간세포 기능을 회복시킨 것으로 사료된다.

간조직 중 항산화효소 활성

머위 에탄올 추출물과 알코올을 6주간 투여하여 측정된 유리기 생성에 관여하는 효소인 XO 활성, 유리기 소거에 관여하는 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성은 Table 4와 같다.

머위 에탄올 추출물과 알코올을 투여한 흰쥐의 간조직 중 XO 활성에서, 알코올 투여로 CON군의 활성은 36.00±6.43 unit로 NOR군의 25.56±9.67 unit보다 상승되었으나, 알코올 투여로 상승된 XO 활성은 머위 에탄올 추출물을 병합투

Table 3. Activities of ALT and AST in serum of rats treated with alcohol and/or ethanol extract of *Petasites japonicus*

Enzyme activities	Group ¹⁾				
	NOR	CON	PJ1	PJ2	PJ3
ALT ²⁾	79.52±3.30 ^{3d)}	87.74±4.11 ^a	80.51±5.03 ^c	84.55±2.18 ^{ab}	82.41±3.22 ^{bc}
AST ²⁾	154.90±5.35 ^{b)}	164.08±6.95 ^{a)}	156.30±7.23 ^{b)}	162.11±11.50 ^{a)}	163.42±16.38 ^{b)}

¹⁾Groups are the same as in Table 1.
²⁾Karmen unit/mL. Values are mean±SE of 8 rats per each group.
³⁾Values with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

Table 4. Activities of XO, catalase, SOD, and GSH-Px in liver of rats treated with alcohol and/or ethanol extract of *Petasites japonicus*

Group ¹⁾	XO ²⁾	Catalase ³⁾	SOD ⁴⁾	GSH-Px ⁵⁾
NOR	25.56±9.67 ^{6d)}	99.97±5.24 ^{b)}	72.22±4.91 ^{a)}	102.42±8.82 ^{b)}
CON	36.00±6.43 ^{a)}	135.42±8.84 ^{a)}	62.39±5.22 ^{a)}	140.55±17.11 ^{a)}
PJ1	25.01±6.89 ^{b)}	94.15±12.47 ^{b)}	74.20±7.42 ^{a)}	99.64±14.15 ^{b)}
PJ2	33.80±7.71 ^{a)}	123.39±11.70 ^{a)}	70.43±9.08 ^{a)}	133.21±13.20 ^{a)}
PJ3	32.53±9.90 ^{a)}	102.22±10.55 ^{b)}	76.99±6.52 ^{a)}	128.51±15.56 ^{b)}

¹⁾Groups are the same as in Table 1.
²⁾μU/g protein. ³⁾Decreased H₂O₂ μmol/min/mg protein. ⁴⁾μmol/min/mg protein. ⁵⁾Decreased NADPH μmol/min/mg protein.
⁶⁾Mean±SE (n=8), values with different superscripts in the same column are significantly different (p<0.05) among groups by Tukey's test.

여한 PJ2군과 PJ3군에서 33.80 ± 7.71 unit와 32.53 ± 9.90 unit로 감소는 되었지만, 유의적인 차이는 없었다.

Catalase 활성에서, 알코올만을 투여한 CON군은 135.42 ± 8.84 unit로 NOR군의 99.97 ± 5.24 unit에 비하여 유의하게 증가되었으나, 머위 에탄올 추출물 저용량 병합투여한 PJ2군은 123.39 ± 11.70 unit로 CON군에 비하여 감소 폭이 작았으나 고용량 병합투여한 PJ3군은 102.22 ± 10.55 unit로 CON군에 비하여 XO 활성이 유의하게 감소되었다. Catalase는 대부분 조직의 peroxisome에서 H_2O_2 를 H_2O 로 환원시켜 H_2O_2 증가에 따른 조직 손상을 방어하는 효소(38)가 있으며 GSH-Px에 비해 Km 값이 높기 때문에 H_2O_2 농도가 높을 때 주로 작용한다고 보고되었다(39).

SOD는 metalloenzyme으로 함유한 금속이온은 즉 Cu, Zn, Mn 및 Fe의 종류에 따라 구분되며, McCord와 Fridovich (40)가 보고한 바와 같이 $O_2^{\cdot -}$ 가 한개의 전자를 받아들여 불안정한 $O_2^{\cdot -}$ 이온을 H_2O_2 로 전환시키는 효소이다. 간 조직 중 SOD 활성에서, CON군은 62.39 ± 5.22 unit로 NOR군의 72.22 ± 4.91 unit에 비하여 활성이 감소되었지만 유의적인 차이는 없었으며, PJ2군과 PJ3군은 70.43 ± 9.08 unit와 76.99 ± 6.52 unit로 CON군보다는 활성이 높았으나 유의차는 없었다.

GSH-Px는 세포질과 사립체내에 존재하기 때문에 사립체내에서 생성된 H_2O_2 소거에 일차적으로 작용하고 Km 값이 낮기 때문에 H_2O_2 의 저농도 하에서도 작용한다. 또한, Se를 함유하는 항산화제 효소로서 체내에서 NADPH를 전자수용체로 하여 GSH를 GSSG, 폴 및 기타 과산화물을 생성하는 반응을 촉매함으로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 효소이다(41). GSH-Px 활성에서, CON군은 알코올 투여로 인하여 활성이 140.55 ± 17.11 unit로 NOR군의 102.42 ± 8.82 unit보다 유의하게 증가되었음은 알코올 투여로 증가된 H_2O_2 를 소거하기 위하여 나타난 생리적 현상으로 판단되고, 머위 에탄올 추출물 병합투여한 PJ2군과 PJ3군은 133.21 ± 13.20 unit와 128.51 ± 15.56 unit로 CON군보다 활성이 감소되었으며 감소효과는 고용량 병합투여시 더 우수하였다.

GSH-Px 활성은 나이, 성별, 환경적인 요인, 과산화지질 섭취 등 여러 인자의 영향을 받는 것으로 보고되었고(41), Orr과 Sohail(42)는 Cu-SOD, Zn-SOD와 catalase의 과발현은 수명을 연장시키고 노화와 관련된 생화학적, 기능적 변화를 지연시키며 정상식이지만을 급여하였을 때보다 단백질 유래 카르보닐 함량도 상대적으로 낮았다고 보고하였다. 본 연구에서 머위 에탄올 추출물 고용량 병합투여한 PJ3군이 알코올 투여로 증가된 GSH-Px 활성을 유의하게 감소시켰음은 머위 추출물에 존재하는 항산화물질의 생체 보호 작용으로 과산화지질에 의한 GSH 감소를 억제하여 나타난 결과로 추정된다.

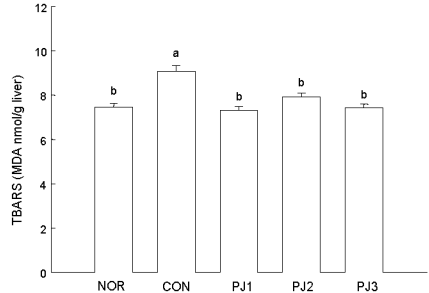


Fig. 2. Content of TBARS in liver of rats treated with alcohol and/or ethanolic extract of *Petasites japonicus*.

Groups are the same as in Table 1.

Values are mean \pm SE of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

간조직 중 과산화지질 함량

머위 에탄올 추출물과 알코올을 흰쥐에 6주간 투여시킨 후 측정된 간조직 중 과산화지질 함량은 Fig. 2와 같다.

간조직 중 과산화지질 함량은 정상식이에 머위 에탄올 추출물을 투여한 PJ1군이 7.33 ± 0.31 nmole/g liver로 NOR군의 7.45 ± 0.37 nmole/g liver보다 낮았으나 유의차는 없었다. 알코올을 투여한 CON군은 9.09 ± 0.52 nmole/g liver로 NOR군에 비하여 과산화지질 함량이 유의하게 증가되었다. 이러한 결과는 만성적인 알코올 투여로 알코올 부산물인 acetaldehyde에 의하여 다양한 유리 라디칼의 생성 증가로 acetaldehyde가 세포질 내에서 XO와 작용하여, 부산물로 superoxide 생성이 증가되어 세포막의 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물이 증가시킨다는 보고와 일치하였다(43). 그러나 머위 에탄올 추출물과 알코올을 병합투여한 PJ2군과 PJ3군의 과산화지질 함량은 7.92 ± 0.37 nmole/g liver와 7.43 ± 0.33 nmole/g liver로 CON군에 비하여 유의하게 저하되었다.

생체에서 과산화지질은 여러 가지 독성 화합물이나 약물에 의한 간 손상 유발의 가장 중요한 인자로 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 유리 라디칼 생성의 증가 및 항산화적 역력의 감소에 의하여 증가되며, 노화나 동맥경화를 비롯한 많은 퇴행성 질환의 주요한 인자로 보고되었다(44).

간조직 중 GSH 함량

머위 에탄올 추출물을 6주간 투여한 후 측정된 간조직 중 GSH 함량은 Fig. 3과 같다.

알코올만을 단독 투여한 CON군은 20.42 ± 3.54 μ g/mg protein으로 NOR군의 35.37 ± 3.52 μ g/mg protein에 비하여 유의하게 감소되었는데, 이 결과는 GSH가 GSH-Px에 의하여 생성된 GSSG를 GSH로 환원시키는 역할을 하는데(45),

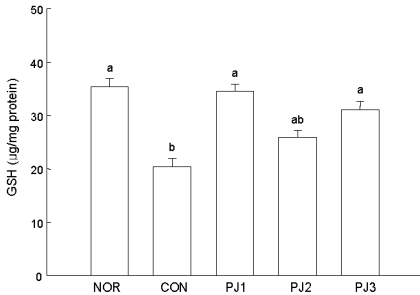


Fig. 3. Content of GSH in liver of rats treated with alcohol and/or ethanol extract of *Petasites japonicus*.

Groups are the same as in Table 1. Values are mean \pm SE of 8 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at $p < 0.05$ by Tukey's test.

알코올 투여로 생성된 H_2O_2 를 제거하기 위하여 GSH-Px 활성이 증가되면서 기질인 GSH가 NOR군보다 다량 소모되어 나타난 결과로 판단되어진다. 알코올과 머위 에탄올 추출물을 저용량 병합투여한 PJ2군은 25.93 \pm 3.02 μ g/mg protein으로 CON군에 비하여 증가되었으나 유의차는 없었고, 고용량 병합투여한 PJ3군은 31.04 \pm 3.65 μ g/mg protein으로 CON군의 함량보다 유의하게 증가되었다. Szweda 등(43)은 알코올의 장기 섭취 시에 지질과산화반응이 촉진되고 4-hydroxy-2-noneal 생성이 증가되며 이로 인하여 glutathione-6-phosphate dehydrogenase 활성이 불활성화되므로써 NADPH 공급이 제한되고 glutathione reductase에 의한 GSSG의 환원력이 상대적으로 감소되기 때문에 세포막 보호능이 감소되어 산화적 손상을 쉽게 받는다고 보고하였는데, 본 실험에서 알코올과 머위 에탄올 추출물을 고용량 병합투여한 PJ3군의 GSH 함량이 알코올만을 단독 투여한 CON군에 비하여 유의하게 증가되었음은 머위 에탄올 추출물이 생성된 H_2O_2 등 free radical을 제거함으로써 GSH-Px의 정도가 상대적으로 감소되고 이로 인하여 GSH의 소모도 감소되어 나타난 것으로 추정된다.

요 약

머위 에탄올 추출물이 알코올 투여로 유발된 간손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 흰쥐에게 정상식이군(NOR), 알코올 투여군(35% alcohol 10 mL/kg bw, CON), 머위 에탄올 추출물 투여군(PJ1), 알코올과 머위 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg bw) 병합투여군(PJ2) 및 알코올과 머위 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg bw) 병합투여군(PJ3)의 5군으로 나누어 6주간 사육하였다. 체중증가를 및 식이효율, 혈청 중 ALT와 AST 활성, 간손상 억제효과를 확인하기 위하여

항산화효소인 SOD, catalase, XO 및 GSH-Px 활성을 측정하였고, 지질과산화물과 GSH 함량을 측정하였다. 항산화 지표를 측정한 결과 정상식이만을 급여한 NOR군과 정상식에 머위 에탄올 추출물을 투여한 PJ1군 간에는 유의차가 없었으나, 알코올을 투여한 군(CON, PJ2 및 PJ3)들 간에는 유의차를 보였으며 특히, 고용량 병합투여 시 항산화효과가 높게 나타났다. 머위 에탄올 추출물 병합투여는 만성 알코올 투여로 감소되어진 체중을 정상 체중으로 회복시켰으며, 알코올 투여로 증가된 유리기 해독계 효소인 catalase 및 GSH-Px 활성 억제와 비효소적 항산화작용을 나타내는 GSH 함량을 증가시킴으로써 지질과산화물에 대한 방어력이 증강됨을 보였고, 또한 혈청 중 AST 활성을 유의하게 감소시킴으로써 알코올 섭취로 유도된 지방간 및 손상된 간조직을 보호하는 항산화효과가 있는 것으로 추정된다.

문 헌

- Choe M, Sin GJ, Choe GP, Do JH, Kim JD. 2003. Synergistic effects of extracts from Korean red ginseng, *Saururus chinensis* (Lour.) Bail. and *Rubus coreanus* Miq. on anti-oxidative activities in rats. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 148-154.
- Pryor WA. 1977. Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicine chemistry. In *Free radical in biology*. Elsevier, Amsterdam. p 331-361.
- Cha BC, Lee W, Choi MY. 1998. Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Korean J Pharmacogn* 29: 28-34.
- Shin CH. 2001. Studies on the antioxidant character in the ethyl acetate extractions of *Rumex crispus*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 16: 592-602.
- Jeong SJ, Lee H, Song NH, Lee SE, Baeg I. 2004. Natural products chemistry: screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 28-33.
- Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidant, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* RUBRECHT (Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
- Jae JU. 1989. Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of *Panax ginseng* C.A. Mayer. *PhD Dissertation*. Seoul National University.
- Sang D, Kim JH, Hoon IO. 1981. Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. *J Korean Agric Chem Soc* 24: 161-166.
- Lee TB. 1994. *Illustrated flora of Korea*. Hyangmoon press, Seoul, Korea. p 742.
- Lim WG. 1990. *The wild plants for food and medicine*. Five star Press, Seoul, Korea. p 115.
- Iriye R, Furukawa K, Nishida R, Kim C, Fukami H. 1992. Isolation and synthesis of a new bio-antimutagen, peasin-phenol, from scapes of *Petasites japonicum*. *Biosci Biotechnol Biochem* 56: 1773-1775.
- Mizushima Y, Ishidoh T, Kamisuki S, Sugawara F, Yoshida H, Sakaguchi K. 2003. Flavonoid glycoside: a new inhibitor of eukaryotic DNA polymerase α and a new carrier for inhibitor-acylaffinity chromatography. *Biochem Biophys Res*

- Commun* 301: 480-487.
13. Lin CH, Li CY, Wu TS. 2004. A novel phenylpropenoyl sulfonic acid and a new chlorophyll from the leaves of *Petasites formosanus* Kitamura. *Chem Pharm Bull* 52: 1151-1152.
 14. Hasa Y, Tazaki H. 2004. Biosynthesis of fukinolic acid isolated from *Petasites japonicus*. *Biosci Biotechnol Biochem* 68: 2212-2214.
 15. Choi OB. 2002. Anti-allergic effects of *Petasites japonicus*. *Korean J Food Nutr* 15: 382-385.
 16. Lee CH, Chang MC, Lee HJ, Kho YH. 2000. An apoptosis regulator isolated from *Petasites japonicus*. *Korean J Food Sci Technol* 32: 448-453.
 17. Matsuura H, Amano M, Kawabata J, Mizutani J. 2002. Isolation and measurement of quercetin glucosides in flower buds of Japanese Butterbur (*Petasites japonicus* subsp. *gigantea* Kitam.). *Biosci Biotechnol Biochem* 66: 1571-1575.
 18. Cho SY, Han YB, Shin KH. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 133-137.
 19. Pszczola DE. 1993. Designer food. *Food Technology* 47: 92-101.
 20. Sadaki O. 1996. The development of functional foods and materials. *Bioindustry* 13: 44-50.
 21. Elliott M Jr. 1996. Biological properties of plant flavonoids: an overview. *J Pharmacology* 34: 344-348.
 22. Yoo SG, Ann CW, Lee TG, Park YH, Kim SB. 1999. Antioxidative effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 299-304.
 23. Lee JO, Kim MC, Kim MH, Park JS, Park EJ, Kim JW, Song KH, Shin DW, Mok JM, Shin HK. 1995. Studies on the phenolic compounds and antioxidant properties of various plants used as commercial teas. *The Annual Report of KEDA* 1: 21-32.
 24. Choi OB, Yoo GS, Park KH. 1999. Antioxidative and antimicrobial effects of water extracts with *Castanea crenata* leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1128-1131.
 25. Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC. 1983. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
 26. Fujii M, Ohmachi T, Sagami I, Watanabe M. 1985. Liver microsomal drug metabolism in ethanol treated hamsters. *Biochem Pharmacol* 34: 3881-3884.
 27. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic determination and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
 28. Downey JM, Miura Y, Eddy LJ, Chambers DE, Mellert T, Hearse DJ, Yellon DM. 1987. Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 19: 1053-1060.
 29. Crapo CH, McCord JM, Fridovich I. 1978. Preparation and assay of superoxide dismutase. In *Methods Enzymol.* Fleischer S, Packer L, eds. Academic press, New York. Vol 53, p 382-422.
 30. Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. *Method Enzymol* 105: 121-126.
 31. Flohe L, Wolfng A, Gunzler WA. 1984. Assay of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymatic analysis*. Packer L, ed. Academic Press, New York, p 14-121.
 32. Buege JA, Aust SD. 1978. The thiobarbituric acid assay. In *Methods in enzymology*. Dacker L, ed. Academic Press, New York. Vol 52, p 302-310.
 33. Tietze F. 1969. Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal Biochem* 27: 502-522.
 34. Lowry CH, Rsenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
 35. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
 36. Kim YJ, Kim CK, Kwon YJ. 1997. Isolation of antioxidative components of Perillae semen. *Korean J Food Sci Technol* 29: 38-43.
 37. Koo BK, Chung JM, Lee HS. 1998. Biochemical evaluation of nutritional status of protein and lipid in patients with alcoholic liver disease. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1236-1243.
 38. Storch J, Ferber E. 1988. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal Biochem* 169: 262-270.
 39. Dolphin D, Forman A, Berg DC, Fajce J, Felton RH. 1971. Compounds I of catalase and horeradish peroxidase. *Proc Natl Acad Sci USA* 68: 614-619.
 40. McCord JM, Fridovich I. 1969. Superoxide dismutase an enzymatic function for erythrocyte (hemocuprin). *J Biol Chem* 244: 6049-6055.
 41. Lawrence RA, Burk F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
 42. Orr WC, Sohail RS. 1994. Extension of life-span by over-expression of superoxide dismutase and catalase in drosophila melanogaster. *Science* 263: 1128-1130.
 43. Szweida LI, Uchida K, Tasi L, Stadtman ER. 1993. Inactivation of glucose-6 phosphate dehydrogenase by 4-hydroxy-2-nonenal. *J Biol Chem* 268: 3342-3347.
 44. Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climet I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymol* 186: 464-478.
 45. Recknagel RO, Glende EA, Hruszkewyze AM. 1977. Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity. In *Free radicals in biology*. Pryor WA, ed. Academic Press, New York. p 97.

(2007년 1월 3일 접수; 2007년 2월 2일 채택)