

동과 (*Benincasa hispida*) 분획물의 투여가 Streptozotocin 유발 당뇨 흰쥐의 항산화 효과에 미치는 영향*

임 속 자[§]

덕성여자대학교 식품영양학과

Effects of Fractions of *Benincasa hispida* on Antioxidative Status in Streptozotocin Induced Diabetic Rats*

Lim, Sook Ja[§]

Department of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

ABSTRACT

This study was designed to examine the effects of fractions of ethanol extract of *Benincasa hispida* (wax gourd) on hepatic antioxidative status in streptozotocin (STZ) induced diabetic rats. Sprague-Dawley rats were induced diabetes mellitus by STZ injection (45 mg/kg) into the tail vein and were divided into 5 groups: normal, STZ-control, three experimental diabetic groups. Fractions of ethanol extract of *Benincasa hispida* were administered orally into the diabetic rats for 14 days. Hepatic glutathione peroxidase (GSH-px) activity (determined with H₂O₂ as substrate) was increased in the groups supplemented with chloroform (CHCl₃) and butanol (BuOH) fractions. Glutathione peroxidase (GR) activity in the liver cytosol of H₂O fraction groups was significantly lower than that of STZ-control group. The H₂O fraction supplemented group has been shown the notably decrease in the hepatic superoxide dismutase (SOD) activity. The hepatic cytosol catalase (CAT) activity was significant decreased by the supplementation with BuOH fraction. It was found from the results that the supplementation of BuOH and H₂O fractions of *Benincasa hispida* extract could be beneficial for the diabetic complications and damages from the lipid peroxidation. (*Korean J Nutr* 2007; 40(4): 295~302)

KEY WORDS : *Benincasa hispida* (wax gourd), ethanol extract, diabetic rats, antioxidative status.

서 론

최근 인구의 고령화와 더불어 식생활이나 기타 생활패턴의 변화로 당뇨병환자가 급증세를 보이고 있다. 1990년 초 세계 보건기구의 조사 통계자료에 의하면 2000년을 기준으로 하였을 때 전 세계에 약 1억 5,100만의 당뇨병 환자들이 있으며, 2010년에는 46%나 증가되어 2억 2,100만 명이나 될 것이라고 예측하였다. 특히 주목해야 할 내용은 불행히도 당뇨병 환자가 아시아 지역에서 가장 많이 증가될 것이라는 예측이다. 아시아 지역의 당뇨병 환자수는 2000년 8,450만 명에서 2010년 57%가 증가된 1억 3,230만 명으로 전 세

계 당뇨병 인구의 약 60%를 차지하게 될 것이라는 내용이다. 나아가 2025년에는 전 세계의 3억이라는 당뇨병에 걸린 인구가 생존하게 될 것이라는 전망이다. 이처럼 아시아 지역에서 당뇨병 발생이 급증하는 이유로는 산업화로 인한 식생활, 생활습관의 변화 및 노인 인구의 증가로 인한 사회변화에 따른 현상을 주목해 볼 수 있다.¹⁾

생체내 정상적인 세포 대사 과정에서 생성되는 free radical은 일반적으로 불안정하고 매우 반응성이 큰 물질로 세포 손상을 초래하여 세포막 혹은 미토콘드리아나 리소좀 등 미세구조막의 구조를 변형시켜 물질이동이나 기능 등에 손상을 가져온다. 세포는 이러한 free radical로부터 보호하기 위한 항산화 방어체계를 갖추고 있다. 항산화 작용을 하는 것으로는 glutathione peroxidase (GSH-px), superoxide dismutase (SOD) 및 catalase (CAT)와 같이 체내에서 생성되는 효소와 비타민 A, C, E 및 carotene 등과 같은 영양소가 있다. 이들은 활성산소나 과산화물과 직접 반응하여 세포를 산화적 손상으로부터 보호하는 역할을 한다. 당뇨 발병 후에도

접수일 : 2007년 3월 29일

채택일 : 2007년 5월 22일

*This research was supported by the Duksung Women's University Research Fund in 2006.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : sjlim@duksung.ac.kr

포도당의 자가산화, 폴리올 경로 및 단백질 당화 등 고혈당과 관련된 많은 생화학적 경로들에 의해 free radical의 생성이 증가되어 다양한 합병증의 공통된 병인으로 작용한다고 한다. 어떠한 원인에서든지 항산화 기능이 떨어지게 되면 산화스트레스가 증가하고 여러 가지 병적 상태를 유발하게 되는 것이다.²⁾ 생체는 정상적인 상태에서는 free radical의 생성과 항산화방어계 (antioxidant defense system)의 활성이 균형을 이루고 있으나, 과다한 free radical이 생성되거나 항산화방어기전의 활성이 감소하는 경우 산화스트레스가 증가되고 지질과산화를 통해 조직손상을 초래할 수 있다.³⁾

당뇨병의 큰 위험 요소인 당뇨병성 만성 합병증 발생이 산화적 스트레스와 밀접한 관련을 가진다는 견해^{4,5)}가 주목받고 있으며, 고혈당 증상이 지속되고 만성화되면 여러 free radical의 생산이 증가되고 반응성이 높은 물질로 인해 혈관 내피세포가 손상을 입게 되어 동맥경화를 비롯한 각종 혈관성 합병증이 발생하게 된다는 보고도 있다.⁶⁾ 고혈당에 의한 산화적 스트레스는 방어기전을 위한 항산화 효소의 양과 활성을 불충분하게 하며 그들 효소간의 균형을 잃기 때문에 합병증에 대한 중요한 병인으로 작용하게 된다. 즉 당뇨병과 같은 병리적 상태에서는 free radical 생성이 증가하며, 이에 대한 방어 기전은 저하되므로 산소 free radical에 의한 조직 손상의 가능성이 높으며, free radical의 발생이 만성 합병증에 관여하는 주요 기전 중의 하나로 보고 있다.⁷⁾ 이러한 제거계의 활성이 저하되거나 혹은 free radical 생성계의 촉진 등으로 이들 간의 균형이 깨어졌을 때 조직은 과산화적 손상을 입게 되어 노화나 염증반응 및 성인병을 촉진하고 나아가 암과 같은 퇴행성 질환을 유발하게 하므로 산화적 스트레스에 감수성이 큰 당뇨병에 있어서 free radical 제거계가 더욱 불안정하다고 볼 수 있다.⁸⁾ 따라서 당뇨병으로 인한 합병증 예방을 위하여 산화적 스트레스에 대한 체내의 항산화적 체계의 방어 능력을 향상시키는 것이 매우 중요하다.

동과 (*Benincasa hispida*, wax gourd)는 박과 (Cucurbitaceae)의 한해살이 덩굴식물로서 소갈 (당뇨병)이나 열독을 풀어주고, 변조증을 낮게 한다.⁹⁾ 동과의 과육은 비만증, 당뇨병, 수종병, 간장질환, 위궤양 및 출혈을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있으며,¹⁰⁻¹²⁾ 대·소장 운동기능을 강화시키고 이노작용과 변비 억제작용을 한다고 하여 건강식품으로서의 선호도가 높아지고 있다.

본 연구실에서 실행한 전보의 연구^{13,14)}에서 동과 (*Benincasa hispida*) 분획물의 투여가 당뇨 흰쥐의 혈당과 간장의 콜레스테롤 함량을 감소시켰으므로 금번 연구에서는 간장의 항산화 효과에 미치는 영향에 대하여 알아보려고 하였다.

실험재료 및 방법

실험재료

본 실험에서 시료로 사용한 동과 (*Benincasa hispida*, wax gourd)는 경상북도 청도군에서 수확하여 건조시킨 것을 구입하여 분말화하였다. 예비실험을 통해 확립된 계통분획법에 따라 용매분획을 실시하였다. 즉 동과의 분말시료를 ethanol (EtOH)로 환류하에서 5시간씩 3회 반복 추출하여 감압농축한 후 여과하고 그 여액을 회전증발기로 감압농축하여 추출물을 얻었다. 이 EtOH 추출물을 증류수에 녹인 다음 chloroform (CHCl₃)과 butanol (BuOH)을 이용하여 순차적으로 분획하였으며 각 분획의 용매를 감압 농축시켜 CHCl₃분획물, BuOH분획물 및 H₂O분획물을 얻어 동물실험에 이용하였다.

실험동물, 당뇨유발 및 실험식이 투여

샘타코 (Sam: TacN (SD)BR, 경기도 오산시)로부터 공급받은 7주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 환경에 적응시키기 위해 고형사료 [(주)삼육실험동물실험연구소]로 예비사육하였다.

실험동물을 16시간 절식시킨 후 STZ (Sigma Chemical Co.)을 pH 4.5의 0.01 M citrate buffer에 45 mg/kg bw 농도로 녹여 꼬리정맥에 주사하였다.¹⁵⁾ 당뇨병의 유발 확인은 24시간 후 안구정맥총에서 채혈하여 혈당을 측정하였고 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨가 유발된 것으로 확인하였다. 정상군은 0.01 M citrate buffer를 당뇨병 유발군과 같은 방법으로 주사하였다.

체중에 따라 난피법에 의하여 5군으로 분류하여 stainless steel cage에 한 마리씩 넣고 실험을 실시하였다. 실험군은 정상군 (normal) (n = 8)과 당뇨유발군으로 분리하였으며 당뇨유발군은 당뇨대조군 (STZ-control) (n = 8), CHCl₃분획물투여군 (n = 7), BuOH분획물투여군 (n = 6) 및 H₂O분획물투여군 (n = 7)의 당뇨실험군으로 구분하였다. 실험동물에서 사용된 각 용매 분획물들의 1회 투여량은 용출액 중의 수율을 계산하여 체중 kg당 CHCl₃분획물은 400 mg, BuOH 분획물은 600 mg 및 H₂O분획물은 1,000 mg을 각각 10 ml의 5% tween 80 용액에 녹여 사용하였다. 정상군과 당뇨대조군은 5% tween 80용액을 kg당 10 ml를 14일간 일정한 시간에 경구투여하였다. 실험식이¹⁶⁾와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험 14일 후 실험동물을 에테르로 마취하고 단두로 희생시킨 후 개복하여 간을 적출하여 -70°C에 냉동보관하였다.

항산화 효소 활성도 측정

간 조직중의 항산화효소원의 분리는 다음과 같다. 즉 간 조직에 phosphate buffered saline (PBS)으로 혈액 등을 제거한 후 3배 용량의 Tris KCl buffer (0.1 M Tris acetate, 0.1 M KCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)를 가하고 균질기로 마쇄하여 얻은 균질액을 8,000 × g에서 30분간 원심분리 (DupPont Sorvall Instrument, Model RC 5C)한 후 그 상정액을 다시 10,000 × g에서 30분간 원심분리한 다음 그 상정액을 취하여 105,000 × g에서 90분간 초원심분리 (Beckman Co. Ltd L-80)시켜 cytosol 분획을 얻었다. 모든 실험조건은 4℃를 유지하면서 행하였고 cytosol은 사용 전까지 -70℃에 보관하였다.

Xanthine oxidase (XOD) 활성도는 xanthine을 기질로 하여 생성된 uric acid를 측정하는 Bergmeyer 등의 방법¹⁷⁾을 이용하였다. 3.0 ml의 혼합용액 (33 mM potassium phosphate, 0.05 mM xanthine, 0.02 unit xanthine oxidase)을 cuvette에 넣은 후 cytosol을 첨가하여 25℃ 290 nm에서 흡광도 증가속도를 측정하였다. Glutathione-S-transferase (GST)의 활성도는 Habig 등의 방법¹⁸⁾에 준해 0.1 M phosphate 완충액 (pH 6.5) 일정량에 cytosol과 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) 및 glutathione (GSH)을 혼합하여 25℃에서 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Glutathione-peroxidase (GSH-px)의 활성도는 Lawrench와 Burk의 방법¹⁹⁾에 따라 cumene hydroperoxide와 H₂O₂를 기질로 하여 각각 시행하였다. GSH가 cumene hydroperoxide 혹은 H₂O₂와 반응하여 산화형 glutathione (GSSG)이 형성되고 GSSG가 NADPH를 산화시키면서 GSH로 환원되므로 340 nm에서 NADPH환원량을 측정하여 계산하였다. 즉 0.5 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 중에 효소액을 가하여 25℃ 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. Glutathione reductase (GR)의 활성도는 NADPH를 이용하여 GSH를 환원시킬 때 NADPH가 NADP⁺로 산화되는 정도를 340 nm에서 NADPH의 분자흡광계수 6.22 mM⁻¹ cm⁻¹을 이용하여 측정하였다.²⁰⁾ Superoxide dismutase (SOD)활성도는 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법⁷⁾을 사용하여 5분 동안 pyrogallol의 autoxidation 억제정도를 325 nm에서 흡광도를 측정하였다. CAT의 활성도는 Abei 등의 방법²¹⁾에 따라 측정하였다. 즉 67 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) 1.0 ml에 기질인 30% H₂O₂를 2 μl를 넣어 25℃ 290 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H₂O₂의 흡광도 변화와 H₂O₂의 몰흡광계수로 H₂O₂의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다. 간장의 cytosol

에서 단백질 함량은 Lowry 등의 방법²²⁾으로 측정하였다.

통계분석

모든 data는 평균 및 표준편차를 계산하였고 비교군들간의 유의성 검증은 SPSS program (version 12.0)을 이용하여 ANOVA test를 한 후 duncan's multiple range test로 확인하였다.

결과 및 고찰

체중, 혈당 및 지질과산화물에 미치는 영향

전보의 연구^{13,14)}의 체중 (Fig. 1), 혈당 (Table 1) 및 지질과산화물 (Table 2)의 함량을 제시하였다.

Xanthine oxidase (XOD) 활성도

생체내 유리기 생성계의 하나인 XOD는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic 화합물 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로 xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응의 촉매로 작용하며 이 과정에서 유리기를 생성한다고 알려져 있다.²³⁾ 간장의 cytosol에서 XOD의 활성도를 측정한 결과 정상군과 당뇨대조군은 유의적인 차이를 보이지 않았으나 당뇨실험군에서는 오히려 낮아졌다 (Fig. 2). Duke 등²³⁾의 연구에 의

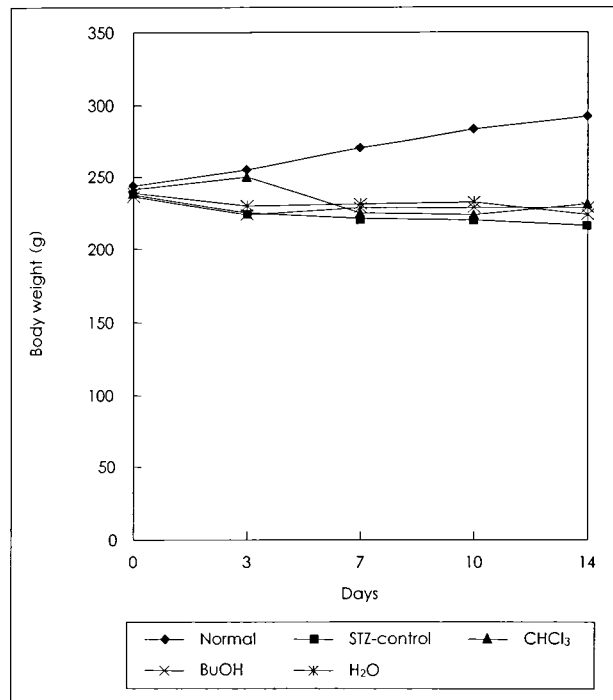


Fig. 1. Body weight change of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts.

Table 1. Plasma glucose levels of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts^{1,2)}

	0 day	3 day	7 day	10 day	14 day
Normal	173.3 ± 14.8 ^a	194.3 ± 26.6 ^a	165.7 ± 16.3 ^a	158.2 ± 9.1 ^a	228.2 ± 12.7 ^a
STZ-control	528.6 ± 31.0 ^b	758.5 ± 114.7 ^b	678.2 ± 99.0 ^{bc}	701.7 ± 128.9 ^c	911.7 ± 138.8 ^c
CHCl ₃	496.9 ± 59.3 ^b	793.0 ± 188.8 ^b	536.5 ± 289.0 ^b	487.2 ± 241.8 ^b	610.5 ± 287.3 ^c
BuOH	498.1 ± 45.5 ^b	674.6 ± 131.0 ^b	728.2 ± 95.3 ^c	648.9 ± 90.1 ^{bc}	829.4 ± 128.8 ^b
H ₂ O	495.9 ± 35.2 ^b	712.9 ± 166.7 ^b	678.1 ± 134.8 ^{bc}	964.6 ± 213.0 ^{bc}	618.4 ± 283.8 ^b

1) Values are mean ± S.D., n = 6-8

2) Values with different superscript within the column are significantly different at the 5% level by duncan's multiple range test
Abbreviation: Normal: normal, STZ-control: diabetic-control, CHCl₃: CHCl₃ fraction of *Benincasa hispida* + STZ, BuOH: BuOH fraction of *Benincasa hispida* + STZ, H₂O: H₂O fraction of *Benincasa hispida* + STZ

Table 2. Malondialdehyde (MDA) levels in liver of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (nmol/mg protein)^{1,2)}

	Liver
Normal	0.28 ± 0.07 ^a
STZ-control	0.66 ± 0.06 ^b
CHCl ₃	0.63 ± 0.06 ^b
BuOH	0.60 ± 0.04 ^b
H ₂ O	0.61 ± 0.10 ^b

1) Values are mean ± S. D., n = 6-8

2) Values with different superscript within the column are significantly different at the 5% level by duncan's multiple range test
Abbreviation: same as in Table 1

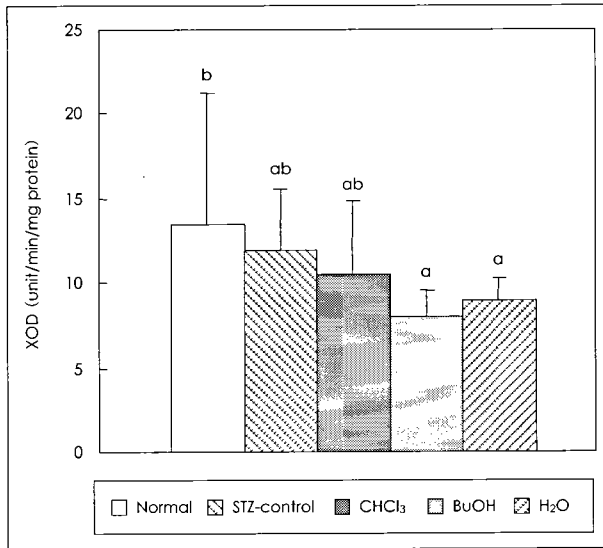


Fig. 2. Xanthine oxidase (XOD) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (unit/min/mg protein). Values are mean ± S.D. Values with different alphabets are significantly different among the groups by duncan's multiple range test.

하면 STZ 유발 당뇨병 간장에서 xanthine의 산화가 증가되어 XOD 활성도가 증가한다고 보고하였으나 본 연구와는 일치하지 않는다. 당뇨병의 병적 상태에서 free radical의 생성체인 XOD나 mixed function oxidase system이 활성

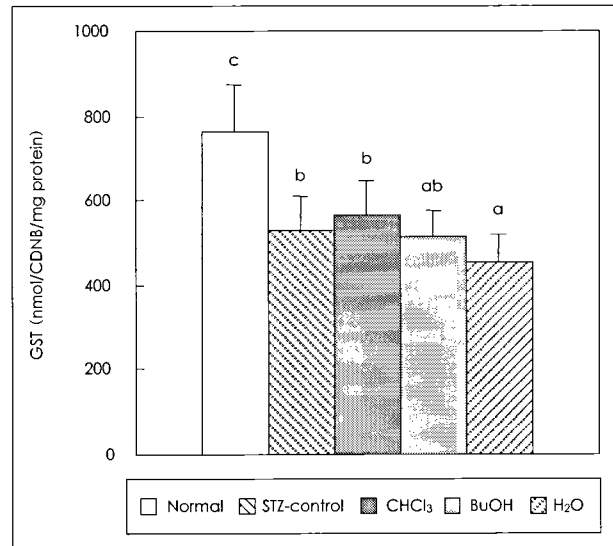


Fig. 3. Glutathione-S-transferase (GST) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (nmol/CDNB/mg protein). Values with different alpha-bets are significantly different among the groups by duncan's multiple range test.

화된다는 연구가 다수 보고되고 있다.²⁴⁻²⁶⁾ 이와 같이 본 실험에서 XOD 활성도가 동과분획물 투여시 감소됨으로써 STZ 투여로 인한 체내 유해 활성산소 대사계의 비정상적 활성변화를 완화시킬 수 있을 것으로 생각된다.

Glutathione-S-transferase (GST) 활성도

생체내의 free radical을 제거해주는 효소적 방어체인 GST²⁷⁾는 내인성 독소 중에서 친전자성 물질 등에 환원형 GSH를 포함시켜 glutathione thioester (R-S-G)를 형성하는 반응을 촉매시킨다.

간장의 cytosol에서 GST 활성도를 측정한 결과 (Fig. 3) 정상군에 비해 모든 당뇨실험군에서 유의적으로 낮게 나타났으며 당뇨대조군에 비해 CHCl₃분획투여군에서 약간 증가하는 경향을 보일 뿐 14일간의 실험기간동안에는 GST의 활성도 회복이 나타나지 않은 것으로 보인다.

Glutathione peroxidase (GSH-px) 활성도

GSH-px는 cytosol과 mitochondria 내에 존재하는 효소로서 지질과산화와 H₂O₂가 일으키는 산화적 손상을 방어하는 일차적인 역할을 수행한다. 또한 GSH-px는 CAT와는 달리 세포내에서 H₂O₂의 제거 뿐만 아니라 지질과산화의 분해를 촉매하여 손상된 세포막을 보호한다.²⁸⁾ GSH-px는 모든 포유동물 조직에서 발견되며 GSH를 이용하여 H₂O₂와 유기과산화물을 제거시키고 이 때 생성된 GSSG는 GR에 의해 다시 GSH에 의존하는 산화 환원반응을 통해 세포막을 보호한다.

간장의 cytosol에서 GSH-px 활성도를 측정한 결과를 보면 (Fig. 4) H₂O₂를 기질로 실험한 경우 정상군에 비해 당뇨대조군에서 약간 낮은 수치를 나타내었다. STZ로 유발된 당뇨쥐에서 정상쥐에 비하여 간조직의 GSH-px가 감소하는 것을 보고한바 있다.²⁹⁻³¹⁾ Kwag 등³²⁾은 조직에서 free radical을 제거하는 GSH-px 등의 항산화계의 활동이 당뇨 쥐에서 감소되며 조직손상을 일으킨다고 보고하였다. 본 실험에서 CHCl₃과 BuOH을 투여한 당뇨실험군들에서 당뇨대조군에 비하여 효소활성도가 회복되는 것을 보였다.

기질 cumene hydroperoxide를 사용하여 측정한 결과에서는 정상군과 모든 당뇨군에서 유의적인 차이를 보이지 않았다. Kakkar 등의 보고³³⁾에서 당뇨 쥐의 간장 중의 GSH-px 활성도가 당뇨군에서 정상군에 비하여 유의성은 없으나 다소 높은 경향을 보인 결과와 일치하였다. 만성당뇨상태나이가 증가할수록 GSH-px의 활성도가 감소한다는 보고³⁴⁾ 당뇨발생초기 (72시간)에는 GSH-px는 변화가 없이 SOD가 증가하였고, 만성당뇨시에는 SOD의 변화없이 GSG-px

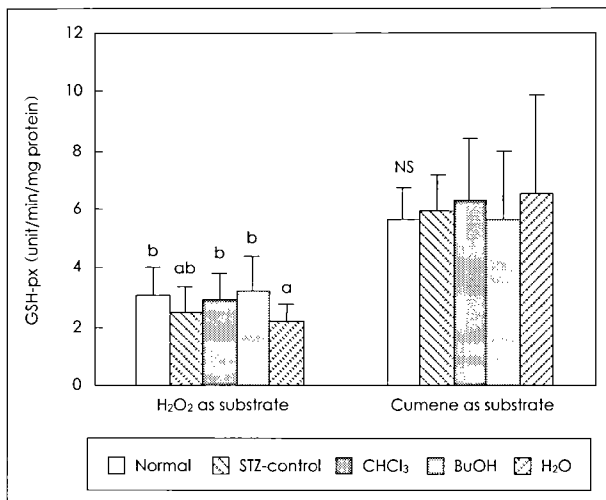


Fig. 4. Glutathione peroxidase (GSH-px) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (unit/min/mg protein). Values with different alphabets are significantly different among the groups by duncan's multiple range test.

활성도가 감소하였다는 보고³⁵⁾ 및 alloxan 유도 당뇨쥐에서 GSH-px 활성도의 감소는 혈당증가와 높은 상관관계를 보인다는 보고,³⁶⁾ 당뇨유도물질 (STZ, alloxan)을 이용한 당뇨실험에서는 증가하였다는 보고 등이 있다.³⁷⁾ 이와 같이 산화적 스트레스가 증가하는 당뇨상태에서 GSH-px에 대한 연구결과는 일치된 견해가 없는 실정이다.

Glutathione reductase (GR) 활성도

GR은 모든 포유동물의 조직에서 발견되는 flavoprotein으로 cytosol에 존재하고 있고 GSH-px에 의해 생성된 GSSG를 NADPH로 소모하면서 GSH로 환원시키는 역할을 수행한다. GR은 이 산화환원반응을 통해 세포내 glutathione pool을 환원상태로 유지함으로써 간접적으로 세포 보호 및 항상성 유지에 기여한다. GR은 직접적으로 과산화물을 소거하지는 않으나 과산화수소나 유기과산화물 환원에 사용되는 글루타티온의 재생산에 관여하는 것으로 알려져 있다.³⁸⁾ 간의 GR 활성도에서 정상군에 비해 당뇨대조군이 유의적으로 증가하였고 H₂O분획물투여군에서는 GR 활성도의 증가를 유의적으로 억제하여 정상수준을 나타내었다 (Fig. 5). 이는 당뇨쥐에 함초를 투여한 실험에서 간장의 GR 활성도가 감소하였다는 보고³⁹⁾와 일치하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 활성도

호기적대사를 하는 생물체는 산소 유리기의 일종인 superoxide를 제거하는 효소인 SOD를 갖고 있어 산소 유리기 반응에 의한 손상에 대하여 어느 정도의 방어력을 유지하고 있으며,⁴⁰⁾ 비정상적으로 증가하는 산소 유리기의 제거를 위해 그 활성도가 높아지는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 즉, 반응성

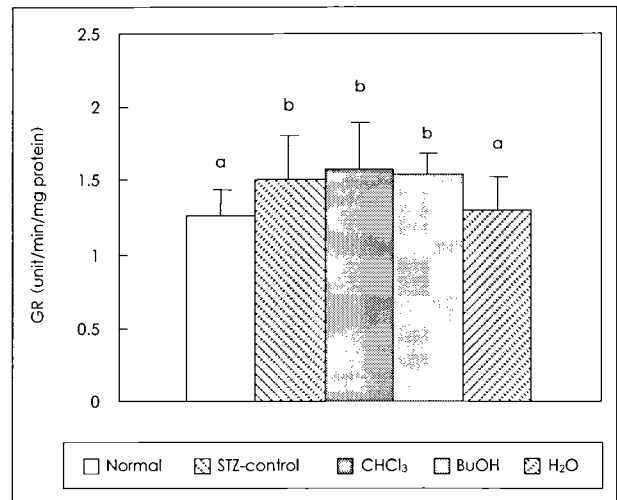


Fig. 5. Glutathione reductase (GR) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (unit/min/mg protein). Values with different alphabets are significantly different among the groups by duncan's multiple range test.

산소 radical을 제거하는 효소인 SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H₂O₂로 바꾸며 생성된 H₂O₂와 유기 과산화물은 GSH-px와 catalase의 작용에 의해 H₂O로 배설됨으로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 효소이다.⁴¹⁻⁴³ 세포내 호흡작용의 부산물로서 생성되는 superoxide radical은 SOD 반응에 의해 제거되므로써 세포를 보호한다.⁴⁴

본 실험에서 간장의 cytosol에서 SOD 활성도를 측정한 결과 (Fig. 6) 당뇨대조군에 비해 모든 당뇨실험군에서 활성

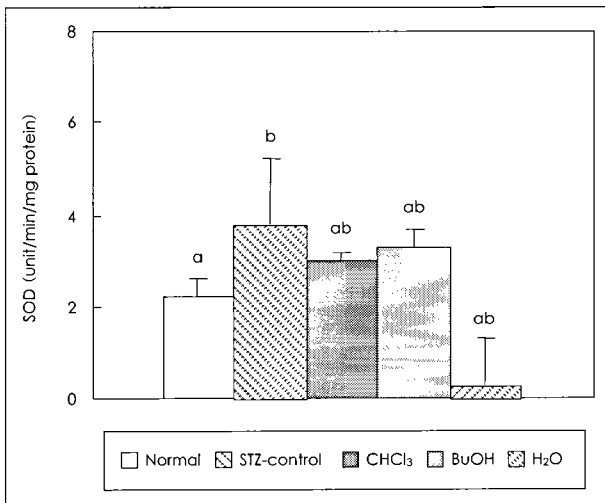


Fig. 6. Superoxide dismutase (SOD) activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (unit/min/mg protein). Values with different alphabets are significantly different among the groups by duncan's multiple range test.

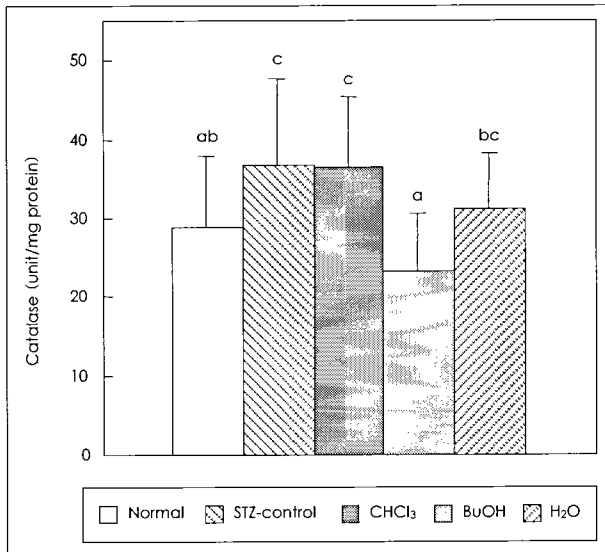


Fig. 7. Catalase activity in liver cytosol of normal and diabetic rats fed on fractions of *Benincasa hispida* extracts (unit/mg protein). Values with different alphabets are significantly among the groups by duncan's multiple range test.

도가 낮아지는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. Kim 등의 실험⁴⁵에서는 SOD 활성도가 STZ만을 투여한 당뇨대조군이 정상군에 비하여 증가되었다고 보고하였는데 이는 당뇨유발로 인해 증가된 활성산소를 소거하려는 생리적 적응현상으로 보여진다. 당뇨병의 경우 고혈당증에 의한 단백질화가 항진됨으로써 그 반응으로부터 활성산소생성이 현저하게 증가되는데⁴⁶ 이 활성산소의 제거를 위하여 SOD가 활성화된 것으로 사료된다.

Catalase (CAT) 활성도

CAT는 지방의 자동산화와 유기물의 산화 및 SOD에 의해 생성된 과산화수소를 GSH-px와 함께 산소나 물로 분해하여 배설시킴으로써 유리기로부터 조직의 손상을 방어하는 효소이다.⁴⁷

간장의 cytosol에서 CAT 활성도를 측정한 결과 (Fig. 7) BuOH분획물투여군을 제외한 당뇨유발 동물에서 높게 나타났다. STZ에 의한 당뇨유발로 간조직의 CAT 활성도가 증가되었다고 보고한 결과와 일치한다.⁴⁸ 당뇨대조군에서 증가된 CAT의 활성은 동과의 BuOH과 H₂O분획물 투여시 감소되었으며 BuOH분획물투여군에서 유의적으로 감소하였는데 본 실험에서 당뇨에 의한 CAT 활성도가 증가된 것은 STZ 투여로 과산화수소와 같은 활성산소종이 증가된 때문이며 BuOH과 H₂O분획물투여군에서 나타나 CAT 활성의 감소는 SOD 활성도에서와 마찬가지로 동과 분획물 투여로 인해 당뇨대조군에 비해 활성산소에 의한 손상이 약화된 것으로 추정할 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

본 연구에서는 동과의 ethanol 추출물을 계통분획하여 streptozotocin으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐에게 14일간 경구투여한 후 항산화방어계에 미치는 영향을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

간장의 cytosol에서 생체내 유리기 생성계의 하나인 XOD 활성도가 당뇨대조군에 비해 BuOH분획물투여군과 H₂O분획물투여군에서 낮은 활성도를 보였으나 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 생체내 유리기를 제거해주는 효소적 방어계인 GST 활성도는 H₂O분획물투여군이 당뇨대조군에 비해 유의적으로 낮은 활성도를 보였다. GSH-px 활성도는 H₂O₂를 기질로 하였을 때 CHCl₃분획물투여군과 BuOH분획물투여군에서 유의적이지는 않았으나 당뇨대조군보다 높은 활성을 나타내었다. 당뇨쥐에서 glutathione의존성 효소계에서는 H₂O분획물의 투여로 인해 GR 활성의 증가를 억제하는 효

과를 나타내었다. SOD 활성도는 유의적이지는 않았으나 당뇨병대조군에 비해 모든 당뇨병실험군에서 낮은 활성도를 나타냈으며 특히 H₂O분획물투여군이 가장 낮은 활성도를 나타내었다. CAT 활성도는 정상군에 비해 당뇨병대조군과 CHCl₃분획물투여군에서 유의적으로 높은 활성도를 보였으며 BuOH분획물투여군에서는 낮은 활성도를 나타내어 정상군과도 유사하였다. CAT의 활성도는 BuOH분획물투여군이 당뇨병대조군에 비해 유의적으로 낮은 활성도를 나타내어 동과 분획물의 투여가 당뇨병으로 인한 산화적 스트레스 억제에 효과가 있음을 나타내었다.

이상의 연구결과 STZ 유발 당뇨병 흰쥐에게 동과 분획물을 투여하였을 때 H₂O분획물투여군이 GR 활성의 증가를 억제하는 효과를 보였고, BuOH분획물투여군은 CAT 활성도를 효과적으로 낮추었는데 이들 분획물의 투여가 당뇨병으로 인한 산화적 스트레스로 인한 항산화제의 개선에 효과가 있다는 결론을 얻었다.

Literature cited

- 1) Zimmet P, Alberti KGMM, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes edemic. *Nature* 2001; 414: 782-787
- 2) Videla LA, Fernandez V. Biochemical aspects of cellular oxidative stress. *Arch Biol Med Exp* 1988; 21: 85-92
- 3) Jennings PE, Barnett AH. New approaches to the pathogenesis and treatment of diabetic microangiopathy. *Diabetes Med* 1988; 5: 1111-1117
- 4) Kwang OG, Rihee SJ. Effects of vitamin E on the oxidative damage and glomerular filtration rates of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2000; 33: 625-631
- 5) Baynes JW. Role of oxidative stress in the development of complication in diabetes. *Diabetes* 1991; 40: 405-421
- 6) Hammers HD. Aminoguanidine treatment inhibits the development of edible and medicinal diabetic retinopathy. *Proc Nat Acad Sci USA* 1991; 88: 11555-11558
- 7) Maklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974; 47(3): 467-474
- 8) Rhee SJ, Choe WK, Cha BK, Yang JA, Kim KY. Effects of vitamin E and selenium on the antioxidative defense system in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Nutr* 1996; 29(1): 22-31
- 9) Huh J. The Handbook of oriental medicine. Namsandang; 1994. p.1170
- 10) Warier PK. Indian medicinal plants. Orient Longman Limited, India; 1994. p.261
- 11) Sharma LK. Food medicines. Practical nature cure. Natural Cure Publishing House, Pudukkottai, India; 1984. p.169
- 12) Grover JK, Adiga G, Vats V, Athi SS. Extracts of *Benincasa hispida* prevent development of experimental ulcers. *J Ethnopharmacology* 2001; 78: 159-164
- 13) Lim SJ, Lee MH. Effects of fracion of *Benincasa hispida* on plasma levels of glucose and lipid in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2005; 38(10): 801-806
- 14) Lim SJ, Lee MH. Effects of *Benincasa hispida* fraction on hepatic lipid levels and lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 2006; 39(6): 513-519
- 15) Lee SS, Kim JW. Pharmacological studies on the water extract of fractus of *Lycium chinese* Mill. *Duksung Bull Pharm Sci* 1991; 2: 29-41
- 16) Reeves PG. Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 1997; 127: 838-841
- 17) Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M. In methods of enzymatic analysis (Bergmeter. HU Ed.). 2nd ed. Vol 1. Academic Press Inc. New York; 1974
- 18) Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139
- 19) Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 1976; 71: 952-958
- 20) Mavis RD, Stellwagen E. Purification and subunit structure of glutathione reductase from baker's yeast. *J Biological Chemistry* 1968; 243(3): 809-814
- 21) Abei H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-126
- 22) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AJ, Randall RR. Protein measurement with the foline phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-273
- 23) Duke EJ, Joyce P, Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *J Biochem* 1973; 131: 187
- 24) Park GY, Lee SJ, Im JG. Effects of green tea catechin on cytochrome p450 xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Nutr* 1997; 26: 901-907
- 25) Park YR, Rhee SJ, Lin S, Joo GJ. Effects of dietary vitamin E on the microsomal mixed function oxidase system of liver and lung in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1996; 25(6): 969-975
- 26) Chai TM, Park MR, Rhee SJ. Effects of green tea catechin on the antioxidative defense system and lipofuscin levels of heart in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Gerontol* 1998; 8: 96-103
- 27) Borrrpart GJ, Prevot DS, Bascands JL. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and S-transferase activity: application to cisplatin-induced toxicity. *Clin Biochem* 1990; 23: 501-504
- 28) Awasthi YC, Beutler E, Srivstava SK. Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J Biol Chem* 1975; 250: 5144-5149
- 29) Rhee SJ, Choe WK, Cha BK, Yang JA, Kim KY. Effects of vitamin E and selenium on the antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Nutr* 1996; 29: 22-31
- 30) Yoo SK, Rhee SJ. Effects of YK-209 mulberry leaves on antioxidative defense system of liver in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31: 1055-1070
- 31) Lee YR, Kang MY, Nam SH. Effect of giant embryonic rice sup-

- plementation on the lipid peroxide levels and antioxidative enzyme activities in the plasma and liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 2005; 48(4): 358-363
- 32) Kwag OC, Yang JA, Rhee SJ. Effects of vitamin E on the antioxidative defense system of kidney in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 1997; 28: 651-662
- 33) Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasad K. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 1995; 151: 113-119
- 34) Kinalski M, Seledziwski A, Telejko B, Zarzycki W, Kinalska I. Lipid peroxidation and scavenging enzyme activity in streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol* 2000; 37: 179-183
- 35) Ramanathan M, Jaiswal AK, Bhattacharya SK. Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the brain of streptozotocin induced diabetic rat. *Indian J Exp Biol* 1999; 37(2): 182-183
- 36) Wobaieb SA, Godin DV. Alterations in tissue antioxidant systems in the spontaneously diabetic (BB Wistar) rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65(11): 2191-2195
- 37) Hermenegildo C, Raya A, Roma J, Romero FJ. Decrease glutathione peroxidase activity in sciatic nerve of alloxan-induced diabetic mice and its correlation with blood glucose levels. *Neurochem Res* 1993; 18: 893-896
- 38) Jang YS, Ahn HS, Kim HR. Effects of vitamin E supplementation on the lipid peroxides and activities of antioxidative enzymes in the pancreas of diabetic KK mice. *Korean J Nutr* 1998; 31: 153-158
- 39) Bang MA, Kim HA, Cho YJ. Hypoglycemic and antioxidant effect of dietary hamcho powder in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2002; 31(5): 840-846
- 40) Chow CK. Nutritional influence on cellular antioxidant defense system. *J Biol Chem* 1969; 244: 6049-6054
- 41) Bus JS, Aust SD, Gibson JE. Superoxide and singlet oxygen catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biophys Res Commun* 1974; 58: 749-753
- 42) Fridovich I. The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defense. *Science* 1978; 201: 875-882
- 43) Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979; 59: 527-552
- 44) Halliwell B, Gutteridge MC. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press Oxford; 1985. p.166-170
- 45) Kim MJ, Cho SY, Lee MK, Shin KH. Effects of *Aralia elata* water extracts on activities of hepatic oxygen free radical generating and scavenging enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2004; 33(4): 653-658
- 46) Wolff SP, Jiang ZY, Hung JV. Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and aging. *Free Radical Biol Med* 1991; 10: 339-352
- 47) Deisseroth A, Dounce AL. Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol Rev* 1970; 50: 3-24
- 48) Mekinova D, Chorvathova V, Volkovova K, Staruchova M, Grancicova E, Klvanova J, Ondreicka R. Effect of intake of exogenous vitamin C, E, β -carotene on the antioxidative status in kidney of rats streptozotocin-induced diabetic. *Nahrung* 1995; 39: 257-261