

Effect of Cordycepin-Enriched *Cordyceps militaris* Powder on Tissues Lipid Peroxidation and Antioxidative Activity in Orotic Acid-Induced Fatty Liver Model RatsHee-Young Ahn¹, Jae-Young Cha², Su-Jin Heo¹, Min-Jeong Kang¹, Jae-Hong Lee¹, Sang-Hyun Park³ and Young-Su Cho^{4*}¹Department of Medical Biosciences, Graduate School, Dong-A University, Busan 604-714, Korea²Technical Research Institute, Daesun Distilling Co, Ltd, Busan 619-951, Korea³MieV Fermentation Science Research Institute, MieV Co. Ltd, Seongnam 462-901, Korea⁴Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received July 5, 2011 / Revised October 12, 2011 / Accepted October 13, 2011

This study is aimed to evaluate the protective effect of Cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* (CMA) strain on orotic acid (OA)-induced fatty liver in rats. OA treatment induced the retardation of body weight gain and enlargement of the liver. The activities of liver marker enzymes, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH), Alk. phosphatase and Cholinesterase were increased when treated with OA, but these parameters were significantly decreased in the CMA group. The current study observed significant elevations of thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) levels. However, among the OA groups, the CMA group showed significantly low TBARS levels of hepatic homogenate. The OA group resulted in a significant decrease in the levels of plasma and hepatic glutathione, but these reductions were significantly increased in the CMA group. These effects were more pronounced in the CMA group than in the PJ or CM groups in Orotic acid treated rats. Accordingly, Cordycepin-enriched *Cordyceps militaris* (CMA) may be an ideal candidate for hepatoprotective effects in animal models.

Key words : *Cordyceps militaris*, *Paecilomyces japonica*, cordycepin, orotic acid, fatty liver

서론

경제성장과 더불어 식생활이 개선되고 생활양식이 편리해짐에 따라 감염성 질환은 줄어들고 있는 반면, 각종 만성 퇴행성 질환이 증가하는 추세로 뇌혈관 질환, 심장질환, 당뇨병, 고혈압 등 순환기계 질환이 사망원인의 대부분을 차지하고 있다[26]. 체내 중성지방 대사와 깊은 관련성을 가진 기관인 간장은 고지혈증, 비만, 대사성 질환, 영양 과다섭취, 알코올의 과다섭취 등으로 중성지방이 증가하게 되어 지방간을 유발하게 된다. Orotic acid는 carbamyl phosphate와 aspartic acid 등의 폐환 반응에 의하여 생성된 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간생성물로서[28], 고 sucrose 식이 중에 1% 수준으로 첨가하여 흰쥐에 1주일 이상 섭취시켰을 때 간장에 중성지방이 이상적으로 축적되어 지방간을 유발시키는 것으로 알려져 있다[8]. 현재까지 임상적으로 사용되고 있는 대표적인 간장 질환 치료제인 silybin 및 silymarin의 경우 국화과 식물인 마리아영경귀(*Silybum marianum*)의 열매에서 분리되었으며 [6,25], 차전자(*Plantago asiatica*)의 aucubin [9], ursodesox-

ycholic acid 및 vitamin B complex 등이 지방간 치료제로 사용되고 있으나, 이들 질환의 심각성과 빈도수에 비해 개발된 치료제가 많지 않은 실정을 감안하면 천연물에서의 간장 질환 치료제의 개발은 그 의미가 크다고 할 수 있다.

동충하초는 면역력 증강, 항산화 효과, 호흡기질환, 항피로 그리고 자양강장 등의 한약제로 사용되고 있고[34], 최근에는 항균효과 및 항암효과로 높은 약리적 효능이 증명되고 있으며 그 주요 성분은 cordycepin, 동충하초산, 여러 가지 다당류, 비타민 D의 전구체인 ergosterol 등이다[17], 특히 Cordycepin(3'-deoxyadenosine)은 번데기 동충하초에 함유된 주요 생리활성 물질로서, 아데노신 리보오스 잔기의 3번째 탄소에 산소가 결핍된 구조로, 다양한 암세포에서 세포사멸 유도에 관한 활성 및 종양세포의 m-RNA 합성저해에 기인한다고 알려져 있다[13,23].

따라서 본 연구에서는 간기능 개선효과, 항산화 효과, 지질 대사 개선효과가 있는 것으로 알려진 눈꽃 동충하초(*Paecilomyces japonica*)와 번데기 동충하초(*Cordyceps militaris*) 그리고 육종에 의해 동충하초의 주요 생리활성 물질인 Cordycepin 함량을 높인 번데기 동충하초(JLM0636)를 orotic acid 유발 지방간의 개선 효과에 대해 검토하기 위하여 10일간 식이 급여한 흰쥐 조직의 과산화지질농도 및 항산화 활성에

***Corresponding author**

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

실험동물, 식이조성 및 사육조건

실험동물은 6주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 효창 사이언스(Daegu, Korea)로부터 구입하여 온도 22±2℃, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 식이 조성은 전보에 준해서 조제하였으며, 육종에 의해 *Cordycepin* 함유량을 높은 *Cordyceps militaris* (JLM0636) (김해, 경남), *Paecilomyces japonica*와 *Cordyceps militaris* 분말을 제공받아 각각 3% 식이에 첨가하였다.

본 실험에서는 체중이 동일하게 난괴법으로 분류하여 정상군(N), 오르트산 투여 대조군(C), 오르트산+*Paecilomyces japonica* 투여군(PJ), 오르트산+*Cordyceps militaris* 투여군(CM), 오르트산+Cordycepin 고탍유 *Cordyceps militaris* (JLM0636) 투여군(CMa)으로 나누어, 식이와 물을 10일간 자유섭취시켰다. 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 측정하였고, 체중은 3일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다.

동물실험, 시료 채취 및 분석시료 조제

동물실험은 10일간 각 군별로 조제사료를 급여하면서 사육한 후, 실험 최종일 12시간 이상 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 해부하였다. 개복 후 복부 대동맥으로부터 채혈하여 혈액을 채취하고, 약 30분간 실온에 방치시킨 후 3,000 rpm에서 20분간 원심분리 하여 혈청을 얻어 혈청 효소 분석에 제공하였다. 채혈 후 각 조직을 적출하여 차가운 0.9% 생리식염수로 세척하고 여과지로 물기를 제거한 후 무게를 측정하고 분석시료로 제공하였다.

혈청 효소 분석

혈청 중의 간장의 손상 상태를 파악하는 몇몇 효소로 알려진 ALT, AST, Alk.phosphatase, Cholinesterase, LDH활성은 의료전문수탁검사기관인 네오딘의학연구소(서울, 한국)에 의뢰하여 분석하였다.

각 조직의 분획 조제 및 과산화지질 측정

각 조직으로부터 homogenate 분획 조제는 조직을 일정량 취해 250 mM sucrose를 함유한 homogenate 용액을 4배 가량 첨가하여 마쇄 균질액을 제조하였다. 분획한 homogenate 생체막의 과산화지질 함량은 전보의 방법[22]에 준하여 정량하였다. 즉, 각 조직 homogenate 분획 용액 1 ml에 각각 thio-barbituric acid (TBA) 시약 2 ml를 가하여 잘 혼합하고, 수조 상에서 30분간 가열한 후 실온에서 방냉하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였

다. 과산화지질 함량은 malondialdehyde를 nmol/g으로 나타내었다.

미네랄 함량 측정

각 조직의 미네랄 함량은 A.O.A.C. 분석 방법에 준하여 측정하였다[1]. 즉, 간 조직 1 g을 각 550℃ 회화로에서 3시간 회화 시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산분해시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건조물에 3 N HCl를 가하여 Whatman No. 4 여과지로 여과하여 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(AAnalyst 300, Perkin Elmer, Norwalk CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

Glutathione 함량 측정

Glutathione 함량은 각 조직의 homogenate 분획 0.2 ml에 3차 증류수 0.3 ml과 0.4% sulfosalicylic acid 0.5 ml를 가하여 혼합하고 원심분리 시킨 뒤 상등액 0.3 ml에 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) 발색시약을 첨가하여 412 nm 흡광도에서 측정하여 glutathione의 표준 검량 곡선에 의해 함량을 산출하였으며 간 조직 g당 mg으로 표시하였다[3].

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean±SE)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test로 하였다[12].

결과 및 고찰

체중, 식이 및 음료 섭취량 변화

Orotic acid 1% 수준을 첨가하여 지방간을 유도한 흰쥐에 *Cordycepin* 고탍유 *Cordyceps militaris* (JLM0636) (CMa군) 분말이 미치는 영향을 살펴보기 위해 대조군인 *Paecilomyces japonica* (PJ군)와 *Cordyceps militaris* (CM군) 분말과 함께 3% 농도를 10일간 기본식이에 첨가하여 투여하였다. Orotic acid는 간장의 중성지질 증가와 체중 감소에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[5]. 정상군(N)에서 체중이 증가한 것에 비해 OA 대조군(C)에서는 유의적으로 감소하여 OA에 의해 성장에 영향을 미친 것으로 사료되며, 식이 섭취량은 N군과 C군은 유의적인 차이가 없지만 CMa군, CM군, PJ군 순으로 섭취량이 감소하는 경향을 보였다. Koh [19]는 *Cordyceps militaris* 분말을 수컷 흰쥐에 5주간 섭취시킨 결과 정상군에 비해 실험군에서 식이 섭취량이 감소한다고 보고하였으며, Koh와 Choi [20]의 연구에서도 고지방 식이에 *Paecilomyces japonica* 3%수준으로 5주간 급여한 결과 식이 섭취량이 감소한다고 보고하였다. 한편, 식이 섭취량은 감소하는 반면 음료 섭취량은 증가하였으며, 그 중 CMa군이 가장 많이 섭취하였다. 이러한 결과로 보아

orotic acid 1%와 PJ군, CM군, CMa군 3% 첨가수준은 체중 증가량 뿐만 아니라, 식이 섭취량 및 음료 섭취량에도 영향을 미치는 것으로 사료된다(Table 1).

각 장기의 무게

각 장기의 체중에 대한 상대 중량(%)을 Table 2에 나타내었다. 간장의 무게는 기본식이를 투여한 N군과 비교해서 orotic acid 1% 투여한 C군에서는 유의적으로 증가하여 중성지방의 축적에 의한 지방간 유발이 확인되었다[8]. 그러나 C군에 비교해 CMa군, PJ군, CM군 순으로 유의적으로 감소하여 중성지방의 축적을 감소시킴으로써 이들의 식이첨가로 인해 지방간의 개선효과가 나타났으나, N군보다는 약간 증가하는 경향을 보였다. 식용버섯의 중성지방 관련 연구로는 고지방 식이에 *Cordyceps militaris* 분말, *Paecilomyces japonica* 분말을 첨가하여 사육한 쥐의 간장 총지질, 총콜레스테롤 및 중성지방이 감소되었다고 하였고[19,20], 표고버섯의 열수추출물의 다당류 중에는 간의 콜레스테롤과 중성지방 농도를 감소시키는 작용[33]이 있다고 하였다. 한편, 신장, 고환의 무게는 각 실험군 간 유의적인 차이는 인정되지 않았으며, 비장, 신장주변 지방조직 및 고환주변 지방조직의 경우 군 간에 약간의 차이를 보였다.

혈청 중의 ALT, AST, ALP, LDH, 및 Cholinesterase 활성 변화

간장 손상의 임상적 지표로 사용되고 있는 ALT, AST, ALP, LDH 및 Cholinesterase 활성 측정을 통하여 간장 기능 효능을 검증한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 혈청 ALT 및 AST 활성은 간장 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간 조직의

파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것으로 간장 손상 지표의 중요한 단서가 된다[7]. 본 실험에서 ALT, AST는 orotic acid 1% 수준 식이 투여 C군에서 유의적으로 증가하였고, PJ군, CM군, CMa군에서는 정상군과 비슷한 양상을 보였다(Fig. 1). 이러한 효과는 각각의 동충하초 분말 3% 식이 투여가 간장 보호 효과에 더욱 우수하다는 것을 암시하고 있다. Koh [19]의 연구에서 동충하초 균사체 섭취로 간장의 AST, ALT, LDH, ALP 모든 효소활성이 유의하게 감소하였다고 보고하였고, Jo 등 [16]은 굴뚝이 유래 밀리타리스 동충하초의 열수 추출물이 사염화탄소 투여에 의해 증가된 혈중 AST, ALT를 저하시켜 간장 조직 보호에 유효한 효과가 있다고 보고하였다. 간장 기능적 임상지표로 사용되고 있는 혈중 ALP, LDH 및 Cholinesterase 활성도 지방간 모델 실험에서 증가됨으로서 간장 독성 유발과 깊은 관련성을 가진 것으로 보고되고 있다 [32]. 본 실험에서도 LDH 활성은 orotic acid 1% 수준 식이 투여 C군에서 증가 경향을 보였으나, 이러한 증가는 PJ군, CM군, CMa군에서 유의적으로 감소하였고 특히 CM군, CMa군에 의해서 크게 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 1). 한편, ALP 및 Cholinesterase 활성은 대조군과 비슷하게 감소하는 결과를 얻었으나, 통계적으로 유의적인 차이는 없었다. 따라서 PJ, CM, CMa 투여는 orotic acid 식이 첨가로 증가된 ALT, AST, ALP, LDH, 및 Cholinesterase 활성을 유의적으로 감소시킴으로서 orotic acid 유발 간장 질환을 개선할 수 있는 건강기능식품 소재로 활용할 가능성이 있는 것으로 사료되어 진다.

Table 1. Effect of PJ, CM and CMa on body weight, food intake and water consumption in orotic acid-induced fatty liver model rats

Groups	N	C	PJ	CM	CMa
Initial weight (g)	213.22±3.27 ^a	213.83±3.26 ^a	213.79±3.90 ^a	212.99±1.92 ^a	212.35±2.42 ^a
Final weight (g)	327.27±2.63 ^a	293.47±6.22 ^b	264.45±8.08 ^c	279.98±5.42 ^{bc}	290.69±3.41 ^b
Food intake (g/day)	26.86±0.43 ^a	26.12±0.58 ^a	17.15±0.84 ^b	21.99±1.11 ^c	22.60±0.35 ^c
Water consumption (ml/day)	27.75±0.34 ^{ad}	25.33±0.66 ^a	29.25±0.57 ^{bd}	31.71±1.34 ^b	42.86±1.13 ^c

Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. (mean±S.E., n=6).

N: Normal, C: Control, PJ: *Paecilomyces japonica*, CM: *Cordyceps militaris*, CMa: Cordycepin-enriched *Cordyceps militaris*

Table 2. Effects of PJ, CM and CMa on the tissues relative weight in orotic acid-induced fatty liver model rats

(% of terminal BW)

Groups	N	C	PJ	CM	CMa
Liver	3.23±0.12 ^a	5.47±0.12 ^b	4.04±0.15 ^c	3.82±0.13 ^c	4.27±0.22 ^c
Kidney	0.82±0.01 ^a	0.82±0.02 ^a	0.93±0.05 ^b	0.81±0.01 ^a	0.82±0.02 ^a
Testis	0.87±0.03 ^a	1.01±0.02 ^b	1.09±0.04 ^b	1.03±0.04 ^b	1.00±0.03 ^b
Perirenal fat pad (g)	1.55±0.13 ^a	1.13±0.17 ^b	0.66±0.07 ^c	0.97±0.07 ^{bc}	0.81±0.05 ^c
Epididymal fat pad (g)	1.61±0.04 ^a	1.46±0.06 ^{ac}	1.18±0.05 ^b	1.35±0.05 ^{cd}	1.28±0.06 ^{bd}

Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. (mean±S.E., n=6).

각 조직의 과산화지질 농도 변화

간장 독성의 정도를 나타내는 지표인 ALT 및 AST 활성과 같이 간 조직 중의 과산화지질 농도도 간장 독성의 지표로 사용되고 있다[21]. 지질과산화 반응은 세포막의 불포화 지방산과 일련의 연쇄반응을 통하여 지질과산화 유발을 촉진하고, 지질과산화의 최종 산물인 malondialdehyde의 농도가 증가되어 세포에 산화적 손상이 일어나게 되면 생리적 기능 저하에 의해 간 질환 등의 여러 가지 질병을 초래하여 노화나 유전적 장애의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 이러한 지질과산화 반응은 여러가지 독성 화합물이나 약물 등에 의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전으로서 세포 내 유리라디칼 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기되는 산화적 스트레스의 증가에 기인한다고 하였다[27,29]. 또한 간장 조직은 체내로 흡수된 모든 영양성분과 알코올, 약물 등을 포함하는 외인성 물질을 분해 시켜 독성을 경감시키는 주요 작용을 하기 때문에 이 과정에서 다양한 독성물질에 노출될 기회가 많아 체내에서 이들의 주된 축적 부위로 알려져 있으며, 이 때문에 항산화계가 저하되어 지질 과산화물을 생성하는데 좋은 환경을 제공함으로써 조직의 손상을 초래할 수가 있다고도 하였다[29].

본 실험에서 생체막 지질의 과산화물 생성 정도의 지표로 알려져 있는 TBARS를 측정된 결과, 정상군(N군)에 비해 orotic acid 1% 식이 투여한 대조군(C군)에서 과산화지질 농도는

간장, 혈청, 신장, 고환에서 유의적으로 증가하였고, PJ군, CM군, CMα군에서 유의적으로 감소하는 경향을 나타내 보였다 (Fig. 2). 동충하초 균사체가 흰쥐의 지질대사에 미치는 영향에 관한 연구에서 간장의 지질, 중성지질 및 콜레스테롤 농도를 낮추는 효과를 보였으며[19], 버섯이 간장의 지질 농도에 미치는 영향에 대한 연구에서 다발구멍장이 버섯 분말[31], 느타리 버섯의 에탄올 불용해성 잔사물[4], 목이버섯 분말[18] 및 표고 버섯 열수추출 다당류[11] 등이 쥐의 간장 중성 지질 농도를 감소시킨다는 보고와 본 실험결과도 비슷한 경향으로 동충하초 균사체 성분인 다당류들이나 섬유소가 장에서 지질흡수를 지연시키거나 억제하여 간장의 중성지질 농도를 낮추는 것으로 생각되며, 특히 CMα군에서 가장 낮은 과산화 지질 함량을 나타내어, Cordycepin 또한 주요 생리활성 물질로 지질대사에 영향을 미칠것으로 사료되어진다.

비헴철 및 아연 함량 측정

필수 미량원소인 철은 지방산화를 촉진시키는 물질로 알려져 있으며[24], 체내 H₂O₂를 제거하는 catalase의 구성 성분으로 체내의 비타민 C의 함량과 H₂O₂의 농도 차에 의해서 과산화지질 반응에 영향을 미침으로서 생체 내 과산화지질 반응을 조사하는데 있어서 비헴철 함량 측정은 중요한 요인으로 시사되어 있다[10]. 간 조직 중의 비헴철 함량은 정상군에서 0.85 ppm, C군에서 0.55 ppm, PJ군에서 0.76 ppm, CM군에서 0.77

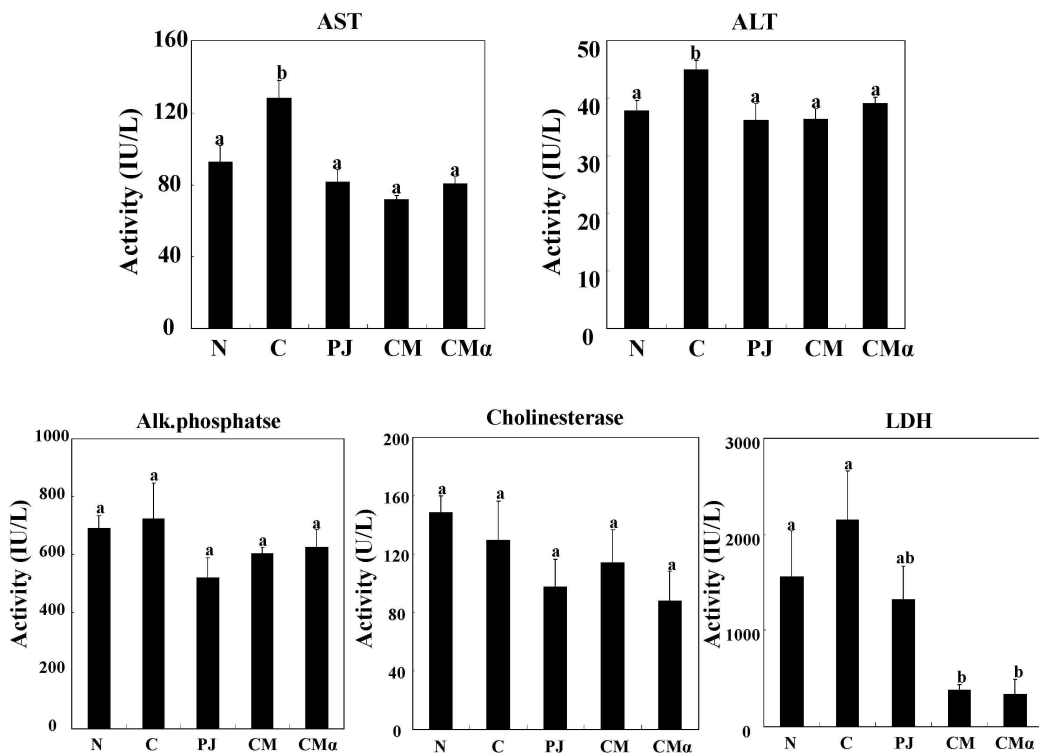


Fig. 1. Effects of PJ, CM and CMα on the serum enzyme activities of AST, ALT, Alk.phosphatase, Cholinesterase and LDH in orotic acid-induced fatty liver model rats. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. (mean±S.E., n=6).

ppm 및 CMa군에서 0.79 ppm으로 나타났다. N군에 비해 C군에서 유의적으로 감소하였으나 CMa군, CM군, PJ군에서 순차적으로 증가하는 경향을 보였다(Table 3). 간장 중의 지질 과산화물 함량은 철분 함량에 의해 영향을 받는다는 결과가 보고된 바 있다. 따라서 본 실험에서도 대조군에 비해 C군에서 간장 중의 비헴철 함량이 감소하였고, 각각의 동충하초 분말 3% 식이 투여에 의해 비헴철의 함량이 증가하였음을 확인하였다. 한편, 생체 내 항산화 물질로 잘 알려져 있는 간장 조직 중의 아연 농도[14] 역시 각 실험 군 간에 비헴철 함량과 유사한 경향차이를 보였다. 즉, 정상군에서 0.25 ppm, C군에서 0.16 ppm, PJ군에서 0.23 ppm, CM군에서 0.25 ppm 및 CMa군에서

0.25 ppm 으로 나타났다. 따라서, 아연함량도 각각의 동충하초 분말 3% 첨가 식이 투여에 의해 증가하였음을 확인하였다.

조직 및 혈중 glutathione 농도 변화

간장은 유리기 생산에 의해 조직 손상을 일으키는 동시에 세포내 항산화 방어 시스템이 작동함으로써 이를 경감시키는 작용도 함께 일어나는 조직이다[2]. 간장 조직에서 glutathione은 L-glutamate, L-cysteine 및 glycine으로 구성된 non-protein thiol tripeptide의 항산화 물질로 최근의 연구에서 동물 간장 조직에서 독성제거 반응을 통한 항산화 방어계에서 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다[5]. 조직 내

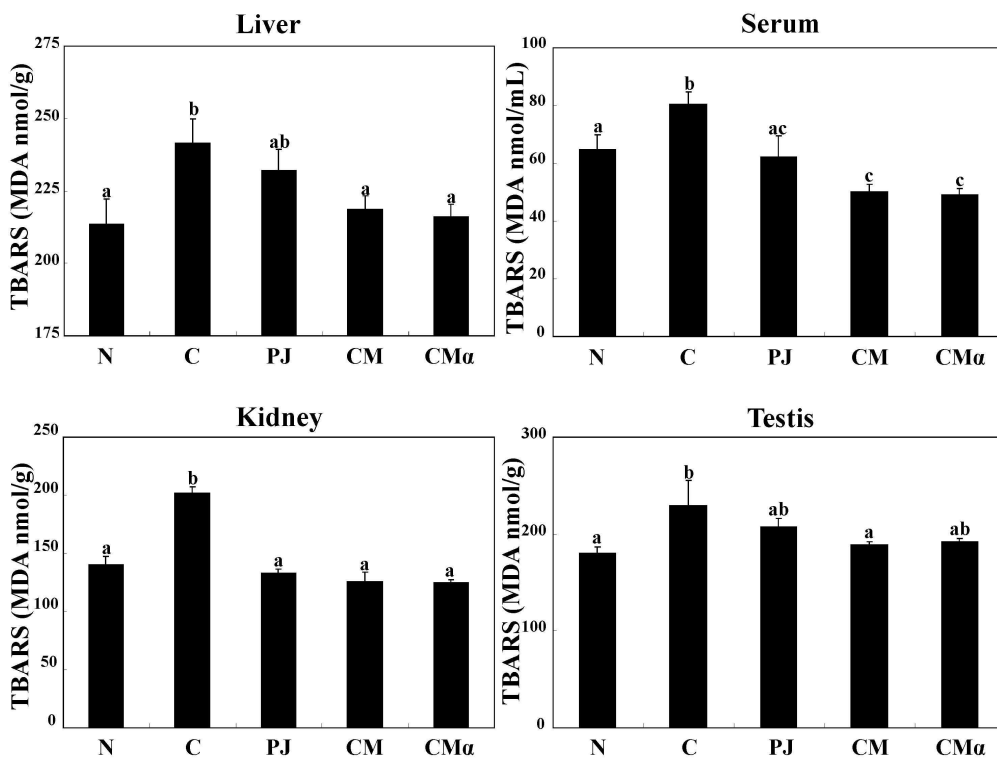


Fig. 2. Effects of PJ, CM and CMa on TBARS in the hepatic fractions, tissue and serum in orotic acid-induced fatty liver model rats. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$. (mean±S.E., n=6).

Table 3. Effect of PJ, CM and CMa on the nonheme iron and zinc contents of in orotic acid-induced fatty liver model rats

Groups	N	C	PJ	CM	CMa
Liver					
Zn	0.25±0.01 ^{ac}	0.16±0.01 ^b	0.23±0.00 ^a	0.25±0.01 ^c	0.25±0.00 ^c
Fe	0.85±0.02 ^a	0.55±0.02 ^b	0.76±0.02 ^c	0.77±0.01 ^c	0.79±0.04 ^{ac}
Kidney					
Zn	0.23±0.01 ^{ab}	0.22±0.01 ^a	0.22±0.01 ^{ab}	0.24±0.01 ^{ab}	0.25±0.01 ^b
Fe	0.17±0.01 ^a	0.20±0.01 ^a	0.07±0.01 ^b	0.07±0.01 ^b	0.05±0.01 ^b
Testis					
Zn	0.24±0.00 ^a	0.21±0.00 ^b	0.23±0.00 ^a	0.24±0.00 ^a	0.30±0.00 ^c
Fe	0.07±0.01 ^a	0.03±0.00 ^b	0.03±0.00 ^b	0.05±0.01 ^a	0.06±0.01 ^a

Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean±S.E., n=6).

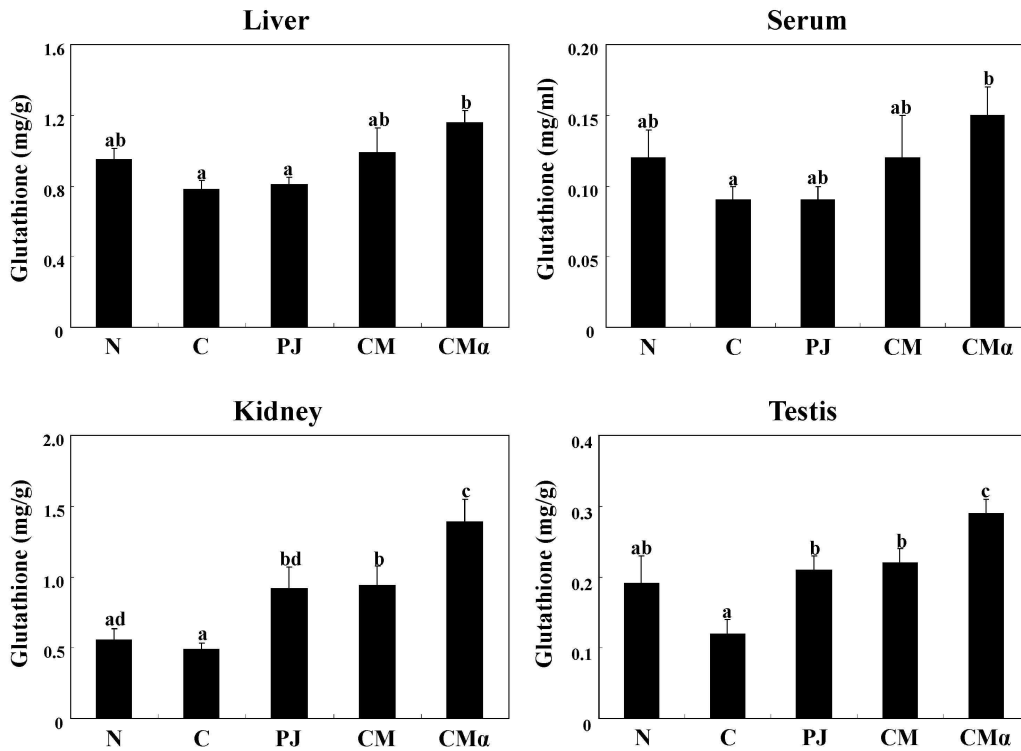


Fig. 3. Effect of PJ, CM and CMα on the glutathione in orotic acid-induced fatty liver model rats. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean±S.E., n=6).

glutathione 수준은 지질과산화 농도, 활성 유리기 및 다른 산화기의 독성 작용으로부터 세포를 방어하는 항산화 시스템과 밀접하게 관련되어 있다. 체내 항산화작용 물질로 잘 알려진 간장 조직의 glutathione 농도는 정상 대조군(N군)에 비해 orotic acid 1% 식이 투여군(C군)에서 유의적으로 감소하였고, 이러한 감소현상은 PJ군과 CM군 및 CMα군에서 증가하는 경향을 보였고, 특히 cordycepin 고함유 분말 3% 투여에 의해 정상군 수준으로 회복되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 지방간 모델 흰쥐는 정상군에 비해 간장 조직 및 혈중 glutathione 농도를 감소 시키지만, 각각의 동충하초 분말 3% 투여에 의해 정상군 수준으로 회복되는 것으로 나타났다(Fig. 3). Glutathion, S-adenosylmethionine, amino acids, zinc를 많이 함유한 효모를 급여한 실험에서 혈중 ALT, AST활성을 감소시켜 강력한 간장보호효과를 나타내는 실험들이 수행되었다 [15]. 이전의 연구에서도 glutathione 고함유 효모 투여가 사염화탄소 및 알코올 투여로 인한 간장 손상을 효과적으로 막는 것으로 보고한 바 있다[30]. 본 실험에서도 동충하초 식이 급여에 의해 간장 세포내 glutathione 농도가 높아지는 결과를 얻음으로서 이를 뒷받침 하고 있다(Fig. 3). Orotic acid 유발 지방간 흰쥐에 cordycepin 고함유 분말 3% 투여 후 과산화지질 농도의 감소는 항산화 활성의 증가와 밀접한 관련성이 있는 것으로 생각되어지며 간장 질환 개선 효과에도 영향을 미칠것으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 Medi-Farm 산업화 연구사업단 연구구비(610003032SB120) 지원에 의해 이루어졌습니다.

Reference

1. A.O.A.C. 1975. Official methods of analysis. 12th eds., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., U.S.A.
2. Balkan, J., O. Kanbagli, G. Aykac-Toker, and M. Uysal. 2002. Taurine treatment reduces hepatic lipids and oxidative stress in chronically ethanol treated rats. *Biol. Pharm. Bull.* **25**, 1231-1233.
3. Beutler, E., O. Duron, and B. M. Kelly. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J. Lab. Clin. Med.* **61**, 882-888.
4. Bobek, P., E. Ginter, L. Kuniak, J. Babala, M. Jurcovicova, L. Ozdin, and J. Cerven. 1991. Effect of mushroom *Pleurotus ostreatus* and isolated fungal polysaccharide on serum and liver lipid in Syrian hamsters with hyperlipoproteinemia. *Nutrition* **7**, 105-109.
5. Bunang, Y., Y. M. Wang, J. Y. Cha, K. Nagao, and T. Yanagita. 2005. Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*

- 21, 867-873.
6. Campos, R., A. Garrido, R. Guerra, and A. Valenzuela. 1989. Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Medica* **55**, 417-419.
 7. Cha, J. Y., H. S. Kim, S. C. Kang, and Y. S. Cho. 2009. Alcoholic hepatotoxicity suppression in alcohol fed rats by glutathione-enriched yeast FF-8 strain. *Food Sci. Biotechnol.* **18**, 1411-1416.
 8. Cha, J. Y., Y. Maeda, K. Oogami, K. Yamamoto, and T. Yanagita. 1998. Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydase activity in rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 508-513.
 9. Chang, I. M. 1998. Liver-protective activities of aucubin derived from traditional oriental medicine. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* **102**, 189-204.
 10. Chiba, H., M. Takasaki, R. Masuyama, M. Uehara, Y. Kanke, K. Suzuki, and S. Goto. 1998. Time course of change in hepatic lipid peroxide level in iron-deficient rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **51**, 201-206.
 11. Choi, M. Y., S. S. Lim, and T. Y. Chung. 2000. The effects of hot water soluble polysaccharides from *Lentinus edodes* on lipid metabolism in the rats fed butter yellow. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 294-299.
 12. Duncan, D. B. 1957. Multiple range test for correlated and heteroscedastic means. *Biometrics* **13**, 164-176.
 13. Furuya, T., M. Hirotani, and M. Matsuzawa. 1983. N6-(2-hydroxy-ethyl)adenosine. A biologically active compound from cultured mycelial of *Cordyceps* and *Isaria* species. *Phytochemistry* **22**, 2509-2512.
 14. Goel, A., V. Dani, and D. K. Dhawan. 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chem. Biol. Interact.* **156**, 131-140.
 15. Izu, H., M. Shobayashi, Y. Manabe, K. Goto, and H. Iefuji. 2006. S-adenosylmethionine (SAM)-accumulating sake yeast suppresses acute alcohol-induced liver injury in mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**, 2982-2989.
 16. Jo, W. S., B. H. Nam, O. J. Oh, Y. J. Choi, E. Y. Kang, S. H. Hong, S. H. Lee, and M. H. Jeong. 2008. Hepatic protective effect and single-dose toxicity study of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protaetia dreujtarsis*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **40**, 1-5.
 17. Kang, H. S., J. H. Son, K. W. Lee, S. K. Kim, B. W. Cho, T. S. Shin, and H. Y. Jeon. 2003. Effects of inoculated diet with *Paecilomyces japonica* on broiler performance. *Korean J. Poultry Sci.* **30**, 49-54.
 18. Kim, G. J., H. S. Kim, S. H. Kim, H. S. Kim, W. J. Choi, and S. Y. Chnng. 1994. Effects of the feeding mixture of mushrooms and vegetable oils on the lipid component and fatty acid composition on liver in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **23**, 736-742.
 19. Koh, J. B. 2002. Effect of mycelium of *cordyceps militaris* on growth, lipid metabolism and protein levels in male rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 685-690.
 20. Koh, J. B. and M. A. Choi. 2003. Effect of *paecilomyces japonica* on lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 238-243.
 21. Li, Y. G., D. F. Ji, S. Chen, and G. Y. Hu. 2008. Protective effects of sericin protein on alcohol-mediated liver damage in mice. *Alcohol* **43**, 246-253.
 22. Manninen, V., L. Tenkanen, P. Koskinen, J. K. Huttunen, M. Manntari, O. P. Heinonen, and M. H. Frick. 1992. Triglycerides and LDL-cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation* **85**, 37-45.
 23. Moon, D. O., M. O. Kim, Y. H. Choi, J. W. Hyun, W. Y. Chang, and G. Y. Kim. 2010. Butein induces G2/M phase arrest and apoptosis in human hepatoma cancer cells through ROS generation. *Cancer Lett.* **288**, 204-213.
 24. Murakami, A., M. Kishimoto, M. Kawaguchi, T. Matsuura, and T. Ichikawa. 1998. Lipid peroxides and their relatives in organs of female rats fed diets containing excessive heme iron. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **51**, 9-15.
 25. Muriel, P., T. Garciapina, V. Perez-Alvarez, and M. Mourelle. 1992. Silymarin protects against paracetamol-induced lipid peroxidation and liver damage. *J. Appl. Toxicol.* **12**, 439-442.
 26. Mushtakova, V. M., V. A. Fomina, and V. V. Rogovin. 2007. Effect of some xenobiotics on oxidative metabolism of human blood neutrophils. *Bull. Exp. Biol. Med.* **143**, 344-346.
 27. Plaa, G. L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-141.
 28. Pottenger, L. A. and G. S. Getz. 1971. Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid fed rats. *J. Lipid Res.* **12**, 450.
 29. Rouach, H., V. Fataccioli, M. Gentil, S. W. French, M. Morimoto, and R. Nordmann. 1997. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* **25**, 351-355.
 30. Shon, M. H., J. Y. Cha, C. H. Lee, S. H. Park, and Y. S. Cho. 2007. Protective effect of administered glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 967-974.
 31. Sugiyama, K., S. Saeki, and Y. Ishiguro. 1992. Hypercholesterolemic activity of ningyotake (*Poyporus confluens*) mushroom in rats. *Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **45**, 265-270.
 32. Sugiyama, Y. and K. Yamamoto. 1998. The protective effect of glutathione-enriched yeast extract on acetaminophen-induced liver damage in rats. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **51**, 189-193.
 33. Yeaul, K. and K. Shuichi. 1989. Dietary mushroom reduce blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Nutr. Sci. Biotechnol.* **35**, 91-96.
 34. Zhu, J. S., G. M. Halpern, and K. Jones. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal regimen, *Cordyceps sinensis* Part II. *J. Altern. Complement Med.* **4**, 289-303.

초록 : Cordycepin이 orotic acid 유발 지방간 흰쥐의 과산화 지질 농도 및 항산화 활성에 미치는 영향

안희영¹ · 차재영² · 허수진¹ · 강민정¹ · 이재홍¹ · 박상현³ · 조영수^{4*}

(¹동아대학교 대학원 의생명과학과, ²대선주조(주) 기술연구소, ³미에부 발효과학 연구소, ⁴동아대학교 생명공학과)

눈꽃 동충하초, 번데기 동충하초, Cordycepin 고함유 번데기 동충하초 분말을 식이 중에 각각 3% 수준으로 첨가하여 10일간 흰쥐에 급여한후 임상생화학적 특성 및 조직 내 항산화 활성 및 간 조직에 미치는 영향을 검토하였다. 체중 증가량과, 식이 섭취량은 각 실험군 모두 감소 하였으나, 음료섭취량은 증가하였다. 간 손상 임상 지표인 AST, ALT, LDH, ALP 활성도 각 실험군 모두 저하하였으며, 대조군과 비교하여 간 조직의 상대 중량도 감소하였다. 각 조직과 혈청의 과산화지질(TBARS)을 측정된 결과 대조군에 비해 각 실험군에서 유의적으로 감소하였으며, 그 중 Cordycepin 고함유 번데기 동충하초 분말을 투여한 군에서 가장 낮은 함량을 보였다. 특히 Cordycepin 고함유 번데기 동충하초는 간장 조직 내에서 높은 과산화지질 억제작용을 나타내어 조직 내 항산화 물질로 잘 알려진 glutathione농도 또한 대조군에 비해 높은 함량을 보였다. 간장 내 지방산화를 촉진하는 Fe와 생체내 항산화물질로 잘 알려진 Zn을 측정된 결과 동충하초 첨가 식이를 섭취한 군에서 증가하였다. 이상의 실험 결과 Cordycepin 고함유 번데기 동충하초는 항 동맥경화 작용 뿐만 아니라 간 조직 내 항산화 물질 증가에 의한 산화스트레스를 경감시킴으로써 향후 간 독성 개선 효능을 가지는 건강기능식품 개발의 소재로 활용될 가능성이 높은 것으로 판단되어 진다.