

## The Effect of *Ishige okamurae* Extracts on Antioxidant Activity and Serum Lipid Content in Ovariectomized Rats

Bokyung Kim and Mihyang Kim\*

Department of Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-738, Korea

Received November 11, 2013 / Revised December 8, 2013 / Accepted December 20, 2013

This study investigated antioxidant activity and the lipid content of serum for the possible outcome of improving the activity of *Ishige okamurae* extracts in ovariectomized rats. The antioxidant effects of an *Ishige okamurae* water extract and an *Ishige okamurae* ethanol extract were measured by evaluating DPPH free radical scavenging activity and SOD-like activity. Fifty, seven-week old female Sprague Dawley rats were randomly assigned to five groups as follows: sham-operated rats (SHAM), ovariectomized rats (OVX-CON), ovariectomized rats that were treated with 17-beta-estradiol (200  $\mu$ g/kg/day), and ovariectomized rats that were treated with *Ishige okamurae* extracts (50 mg/kg/day and 200 mg/kg/day, respectively). The diets were fed to the rats for seven weeks after ovariectomy. The antioxidant activities of the water and ethanol extracts of *Ishige okamurae* increased in a dose-dependent manner, and the ethanol extract was found to be higher than the water extract. Therefore, we examined the effect of an *Ishige okamurae* ethanol extract on total serum cholesterol, triglycerides, HDL-cholesterol, and LDL-cholesterol levels, and anti-platelet aggregation. The total-cholesterol and triglyceride content of the serum increased in the OVX-CON group compared to the SHAM group, but supplementation with the *Ishige okamurae* ethanol extract caused these factors to decrease. Notably, the serum LDL-cholesterol concentration in the supplemented 200 mg/kg/day *Ishige okamurae* ethanol extract group was significantly more reduced than it was in the OVX-CON group. In addition, the platelet aggregation ability was lower in the groups treated with *Ishige okamurae* than it was in the OVX-CON group. According to these results, the effects of *Ishige okamurae* extract on serum lipid content in ovariectomized rats were illuminated.

**Key words** : Antioxidant activity, *Ishige okamurae*, ovariectomized, platelet aggregation, serum lipids

### 서 론

인구의 고령화는 전 세계적으로 매우 급속하게 진행되고 있으며, 특히, 우리나라의 경우 고령화 진전속도가 다른 선진국과 비교하여 진행속도가 매우 빨라 큰 문제가 되고 있다[17]. 경제성장에 따른 건강 증진의 결과로 인한 우리나라 여성의 평균수명의 연장과 지적 수준의 향상 등으로 여성의 폐경기와 폐경 후의 삶의 질 향상과 건강 증진에 대한 관심 또한 점점 고조되고 있다[33, 34]. 폐경의 주요 증상으로는 안면홍조, 불안증, 우울, 신경과민 및 기억력 감퇴 등의 증상이 대표적이며 이러한 증상의 원인은 에스트로겐의 생산과 분비가 중단되어 나타난다고 알려져 있다[4, 40]. 이러한 증상을 해결하기 위해 주로 호르몬 요법, 약물요법, 운동요법 및 식이요법이 처방되며, 그 중 호르몬 보충 요법(hormone replacement therapy,

HRT)은 폐경 여성의 심혈관계 질환 및 골다공증의 발생위험을 감소시킨다는 연구결과[2, 13, 39]가 있으나 약물 요법으로 인한 에스트로겐 치료는 유방암의 발병률을 증가시키고[38], 장기간 사용 시 자궁 내막암, 유방암, 혈전혈관 질환, 담낭질환, 고혈압의 발병률을 증가시킬 수 있다는 보고가 있다[12, 42]. 현재 폐경 여성의 삶의 질 향상을 위해 호르몬 보충 요법에 관한 관심이 높으나, 자궁 내막암과 유방암, 심장 질환 등과 같은 호르몬 보충 요법이 가진 위험성으로 인하여 안전하고 보다 효과적인 치료법이 요구되고 있다.

과거 식용 해조류는 소화흡수율과 영양가가 낮아 영양학적인 측면에서 관심을 끌지 못했으나, 근래 들어 해조류에 무기질, 비타민 및 식이섬유소가 풍부하고, 해조류에 포함된 탄수화물이 혈관 내 콜레스테롤 침착 방지와 장기 활동을 원활히 하고 고지혈증 개선에 효과가 있다는 연구[16, 20]가 보고되면서 해조류에 대한 관심이 점차 높아지고 있다. 또한, 해조류의 생리활성 물질 탐색[26]을 포함하여, 항 종양성 및 항 virus성, 항 혈액응고, 면역력 증강[36], 항암[6, 23] 등에 대한 영향이 연구되고 있으며, 알긴산의 노화억제효과, 동맥경화, 심근경색, 고혈압에 대한 효과[7, 35] 등 해조류에 대한 다양한 생리활성 연구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구에서 사용된 패(*Ishige okamurae*)는 패과에 속하는

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5620, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : mihkim@silla.ac.kr

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.

갈조류로 중국, 일본 및 태국 연안에 분포하며, 우리나라에서는 남해안과 제주도 해안가의 바위에 붙어 자생한다. 패의 생리활성 물질 중 폴리페놀 성분으로 알려져 있는 phlorotannin은 항플라스민 억제 효과 및 항알레르기 활성이 있다고 알려져 있다[28, 32]. 패의 또 다른 생리 활성 물질로는 fucoxanthin, 타우린, fucose-containing polysaccharides이 포함되어 있다고 알려져 있으며[21], 인체의 소화효소에 의해 분해되지 않은 난소화성 다당류인 알긴산을 풍부하게 함유하고 있다[14]. 이처럼 패는 다양한 생리활성 물질을 함유하지만 패 추출물이 estrogen 감소로 인한 혈관 지질 조성 변화에 어떠한 영향을 미치는지에 관한 연구는 아직 진행된 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 열수 및 에탄올을 이용하여 패를 추출하여 폴리페놀 함량 및 항산화 활성을 측정 후, 이러한 실험 결과를 토대로 활성이 뛰어난 추출물을 갱년기를 유도한 흰쥐에 투여하여 패가 혈중 지질 조성 및 혈소판 응집에 어떠한 영향을 미치는지 검토하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 추출물의 제조

본 연구에 사용된 갈조류인 패(*Ishige okamurae*)는 제주도 동귀에서 채취하여 세척 후 자연 건조하여 분쇄한 형태로 판매하는 것을 파라제주(제주시)에서 구입하여 사용하였다. 분말형태의 패 30 g을 증류수 혹은 80% 에탄올로 80°C에서 추출하였고(Table 1) 추출과정을 2회 반복하여 얻은 추출물을 감압 건조하여 모든 실험에 사용하였다.

#### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀함량은 Chandler과 Dodds [5]의 방법에 따라 측정하였다. 시료 1 ml에 95% ethanol 1 ml, 정제수 5 ml 및 50% Folin-Ciocalteu reagent (Sigma) 0.5 ml을 혼합하여 5분간 방치한 후 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml를 첨가하여 교반시킨 다음 1시간 동안 암소에 둔 후 tannin acid를 표준시약으로 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능 측정

DPPH radical 소거 활성은 Blois의 방법에 따라 각 시료의 DPPH radical에 대한 환원력을 측정하였다[3]. 각 분획물을 70% ethanol에 용해한 후 농도별로 희석하고 시료 100 µl와

methanol에 용해시킨 60 µM DPPH 100 µl를 혼합하여 30분 동안 반응 시킨 다음 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical소거 활성능은 아래 식에 따라 백분율로 나타내었다.

$$\text{DPPH radicals scavenging activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: absorbance of sample, B: absorbance of blank

#### Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund등의 방법[29]에 따라 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 시료를 농도별로 희석하여, 시료 10 µl에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane, 10 mM EDTA, pH 8.5) 150 µl와 7.2 mM pyrogallol 10 µl를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 N HCl 50 µl를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 ELISA reader를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: absorbance of sample, B: absorbance of blank

#### 실험동물 사육 조건

체중이 200-220 g인 7주령의 암컷(Sprague-Dawley) 쥐 30마리를 (주)오리엔트 바이오에서 분양받아 1주일간 적응시킨 후 난괴법(randomized complete block design)에 의해 군을 나누어 난소절제 수술(ovariectomy)을 하였고 비 난소절제 대조군에게는 sham-operation을 실시하였다. 수술 후 1주일간 고형 사료를 주어 상처가 회복되면 각 군으로 나누었다. 실험 동물은 총 5개의 군으로 분류하였으며 비 난소절제 대조군(SHAM), 난소절제 대조군(OVX-CON), 난소절제 후 17-beta-estradiol 주사군(OVX-ES), 난소절제 후 패 에탄올 추출물 50 mg/kg 투여군(OVX-IE50), 난소절제 후 패 에탄올 추출물 200 mg/kg 투여군(OVX-IE200)으로 각 6마리씩 5군으로 나누어 1 ml의 시료를 매일 경구 투여하며(Table 2), 7주간 사육하였다. 양성 대조군으로는 17-beta-estradiol를 corn oil에 용해(200 µg/kg subcutaneously in 0.1ml corn oil/100 g body weight)하여 피하 주사하였다. 실험기간 동안 식이 섭취량과 체중은 매일 일정한 시간에 측정하였다. 동물실험실의 사육조건은 온도 24±2°C, 습도 50-55%를 유지시켰고, 물과 식이는 제한 없이 제공하였다.

#### 난소절제시술

1주일 동안 주위환경에 적응시켜 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 군을 나누어 난소절제 수술을 실시하였다. 수술은 zoletil과 rompun을 이용

Table 1. Extraction conditions of *Ishige okamurae*

Samples	Temperature (°C)	Time (hr)	Solvent	Repetition
H <sub>2</sub> O ex.	80	4	distilled water	2
EtOH ex.	80	4	80% ethanol	2

Table 2. Experimental design of animals

Group (No) <sup>1)</sup>	Treatment
SHAM (6)	operated rats
OVX-CON (6)	ovariectomized rats
OVX-ES (6)	ovariectomized rats injected 17-beta-estradiol 200 µg/kg
OVX-IE50 (6)	ovariectomized rats supplemented <i>Ishige okamurae</i> ethanol extract 50 mg/kg bw/day
OVX-IE200 (6)	ovariectomized rats supplemented <i>Ishige okamurae</i> ethanol extract 200 mg/kg bw/day

<sup>1)</sup>No: number of rats

하여 마취 후 심마취기에 이르면 복부를 절개하여 난소를 제거하고 절개부는 봉합하였다. 수술 후 일주일간 일반 식이를 급여하며 상처를 회복시켰다. 또한, 대조군 설정을 위하여 비난소절제군은 복막 절개까지 난소절제 수술과 같은 방법으로 시행하고, 양측의 난소를 노출 하였다가 절제하지 않고 복막 속으로 다시 넣어 난소절제와 같은 스트레스를 주고 다시 봉합하는 모의수술(sham operation)을 시행하여 대조군으로 사용하였다.

**혈액 및 조직 채취**

실험동물은 해부 전 24시간 절식시켰으며, zoletil과 rompun을 이용하여 마취한 후 회복하여 복부대정맥에서 혈액을 채취하였다. 혈액의 생화학적 분석을 위해 상온에서 30분간 방치 한 후, 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 사용하였다. 조직은 심장, 신장, 부신, 비장, 폐, 간 및 자궁을 적출하여 주위의 지방과 물기를 제거하여 실험 시까지 -70℃에 보관하였다.

**혈청 중의 지질농도 분석**

채취한 혈액은 실온에서 30분 방치 후 4℃, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 중의 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 분석은 자동 측정용 slide (FUJI FILM, Japan)를 이용하여 Dry chemistry analyzer 3500i (FUJI, Japan)로 측정하였다.

**혈소판 응집력 분석**

채취한 혈액을 3.2% sodium citrate 용액과 1:9의 비율로 혼합한 뒤 1,100 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet rich plasma)를 취하고, 3,000 rpm에서 10분간 더 원심 분리하여 상층의 혈장을 제거한 후 EDTA를 포함하는 washing buffer (138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 12 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.36 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 5.5 mM glucose, 1 mM EDTA, pH 6.5) 5 ml를 가하여 혈소판을 재현탁 하였다. 이 혈소판을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 다시 suspending buffer로 현탁시켜 washed platelet을 조제하였다. Washed platelet는 suspending buffer로 희석하여 혈소판 수가 5×10<sup>8</sup>/ml가 되도록 하였고, 응집유도제로 collagen을 2.5 µg 가하여 5분간 반응시켜, Whole blood lumi-aggregometer (Chrono-log,

U.S.A.)를 사용해 37℃에서 혈소판 응집을 측정하였다.

**통계처리**

연구결과 얻어진 자료를 SPSS (statistical package for social science, version 17.0) 통계 프로그램을 사용하여 하위그룹 각각의 기술 통계치(mean, SD)를 산출하였다. 집단간의 차이를 알아보기 위해 일원변량분석(one-way ANOVA)를 이용하여 분석하였고, 사후검증은 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 검증하였다.

**결과 및 고찰**

**패 추출물 수율 및 총 폴리페놀 함량**

해조류중의 polyphenol성 물질은 에스트로겐의 활성이 있음이 알려져 있으며[15, 24], 폴리페놀은 reactive free radical 에 수소원자를 제공하여 안정한 non-radical을 만들어 줌으로써 항산화 효과를 나타낸다[9]. 폴리페놀 함량이 높은 추출 방법을 이용하는 것이 에스트로겐의 활성이 높을 것으로 예상되어 본 연구에서는 용매에 따른 함량을 측정하였다. 패를 열수와 에탄올의 두 용매를 이용하여 추출한 결과는 Table 3과 같다. 그 결과 패 열수 추출물 보다 에탄올 추출물의 경우 수득율과 총 폴리페놀 함량이 높은 것으로 나타났다.

**패 추출물의 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거 활성**

DPPH는 ascorbic acid, tocophenol, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민에 의해서 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 항산화물질의 전자공여능을 측정할 때 편리하게 쓰이고 있다[19].

DPPH radical 소거능의 측정은 일종의 전자공여능을 측정하는 방법으로써 환원력이 클수록 강력한 항산화제가 된다는

Table 3. Yield and polyphenol concentration of water and ethanol extracts of *Ishige okamurae*

Samples	Yields (%)	Total polyphenol concentration (mg/g)
H <sub>2</sub> O ex.	16.28	1.80±0.94
EtOH ex.	21.60	2.22±0.79

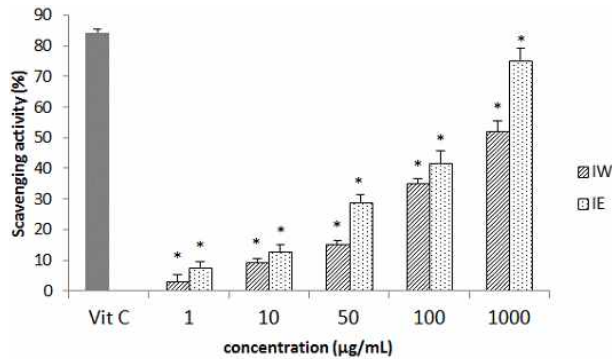


Fig. 1. Scavenging activity of DPPH radicals of various solvent fractions of *Ishige okamurae*. Ascorbic acid (Vit C) concentration for DPPH radical scavenging activity measurements were used 1,000 µg/ml. \* $p < 0.05$ , significantly different from positive control group.

것에 착안하여 DPPH의 환원 정도를 기준으로 측정물질의 환원력과 항산화력을 가능하게 된다[19]. 전자공여 작용은 지질 과산화의 연쇄반응에 관여하는 활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도가 되며, free radical은 인체 내에서 각종 질병과 세포의 노화를 일으키므로 식물 추출 등에서 항산화제로 작용할 수 있는 물질을 분리할 필요가 있다 [22].

본 연구에서는 패 추출물의 DPPH radical 소거 활성을 측정 한 결과 패 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 농도 의존적인 항산화 활성을 나타냈다(Fig. 1). 추출 방법에 따른 DPPH radical 소거 활성은 열수 추출보다 에탄올 추출에서 더 높은 것으로 나타났다. 폴리페놀 함량에 있어서도(Table 3) 에탄올 추출물에서 더 높은 것으로 나타나, 해조류들의 DPPH radical 소거 활성이 폴리페놀 함량과 비례한다는 기존의 보고와 일치 하는 것을 알 수 있다[25]. 한편, 패 에탄올 추출물이 100 µg/ml일 때 DPPH radical 소거 활성이 40% 이상을 나타내었고, 1000 µg/ml 농도의 경우 72%의 활성을 나타내었다. 안의 연구에 따르면, 패 메탄올 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정 한 결과 농도가 500 µg/ml일 때 약60%의 활성을 나타내어 본 연구 결과와 유사한 항산화 활성을 나타내었다[1].

패 추출물의 SOD 유사활성

항산화효소중 하나인 SOD는 인체 내에서 superoxide를 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환시킨 후 peroxidase나 catalase에 의해 최종적으로 물과 산소로 변환시키는 대표적인 활성 산소저해제이며, 천연소재로써 안정적인 SOD유사활성 물질을 찾고자 하는 연구가 활발히 진행 중이다[8]. Superoxide와 반응하여 갈변현상을 나타내는 pyrogallol의 자동산화 반응 억제능을 측정하는 원리를 이용하여, 패 열수 및 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 SOD 유사활성을 측정하였다.

에탄올 추출물의 농도가 1,000 µg/ml일 때 55%로 가장 높

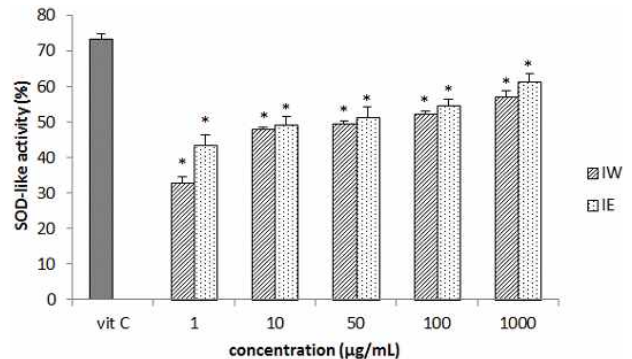


Fig. 2. SOD-like activity of various solvent fractions of *Ishige okamurae*. Ascorbic acid (Vit C) concentration for DPPH radical scavenging activity measurements were used 1,000 µg/ml. \* $p < 0.05$ , significantly different from positive control group.

은 활성을 나타내었으며 열수와 에탄올 추출물이 농도 의존적으로 활성이 증가하는 경향을 나타내었다(Fig. 2). 김[18]의 연구에 따르면 구멍 쇠미역, 다시마, 팽새이 모자반 모두 농도 의존적으로 SOD 유사활성이 증가하는 연구결과가 있으며, 다시마 메탄올 추출물의 농도가 1,000 µg/ml 일 때 41%의 활성을 나타내었다는 보고가 있다. 이상과 같이 패 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 폴리페놀 함량, DPPH radical 소거능 및 SOD유사활성 또한 높은 것으로 나타나, 이를 이용하여 갯넉기 유도 동물에 대한 지질 함량 변화에 미치는 영향을 검토 하였다.

패 추출물의 실험동물의 체중 증가량, 식이효율 및 장기중량에 미치는 영향

폐경 여성의 비만은 독특한 생리적인 현상으로 폐경 후의 여성이나 난소를 제거한 동물의 경우 음식물 섭취가 촉진되고, 몸무게와 지방조직이 증가되는 것으로 알려져 있다[30, 31]. 난소절제 및 패 추출물의 투여에 따른 체중변화와 식이 섭취량은 Table 4와 같다. 실험 종료 시 체중은 난소를 절제한 군(OVX-OVX)이 난소를 절제하지 않은 군(SHAM)에 비하여 높은 경향을 보였다. 이는 흰 쥐에서 난소를 제거하면 성장속도가 증가하여 체중이 증가하는 것이며, 체중 증가의 대부분은 체내 지방의 축적에 기인하는 것으로 보인다.

난소절제군의 체중 증가는 여러 연구 결과가 보고되어 있으며, Gale와 Sclafani에 의하면 난소절제는 식이 섭취량과 식이 효율을 증가시켜 비만을 야기한다고 보고하였으며[11], 이 등은 난소절제된 쥐들의 체중과 체지방 무게의 증가를 보고하였다[27].

난소절제 후 패 추출물을 투여한 모든 군에서 SHAM과 비교해 높은 체중 증가량을 보였다. 난소 절제 후 패 추출물이 체중감소에는 크게 영향을 미치지 않았으나, OVX-IE200군이 OVX-CON군에 비해 감소하는 경향을 보였다. Table 5는 각

Table 4. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio of rats supplemented *Ishige okamurae* ethanol extracts for 7 weeks

Groups <sup>1)</sup>	Final body weight (g)	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio (FER) <sup>2)</sup>
SHAM	354.8±19.81 <sup>NS3)</sup>	4.08±2.49 <sup>NS</sup>	14.03±0.95 <sup>NS</sup>	0.29±0.18 <sup>NS</sup>
OVX-CON	364.02±17.53	5.16±0.36	20.37±1.45	0.25±0.13
OVX-ES	326.1±29.80	4.86±0.43	23.49±2.57	0.20±0.05
OVX-IE50	324.22±27.51	4.50±0.57	24.84±1.95	0.18±0.01
OVX-IE200	345.8±32.50	4.62±30.63	23.78±4.27	0.19±0.08

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 2.

<sup>2)</sup>FER: Body weight gain/Food intake. <sup>3)</sup>NS: Not significantly

Table 5. Effect of *Ishige okamurae* ethanol extract on weight of liver, heart, lung, spleen, adrenal, kidney and uterus in ovariectomized rats

Groups <sup>1)</sup>	Liver	Heart	Lung	Spleen	Adrenal	Kidney	Uterus
SHAM	7.69±0.52 <sup>NS2)</sup>	0.85±0.05 <sup>a3)</sup>	1.44±0.08 <sup>b</sup>	0.57±0.08 <sup>b</sup>	0.03±0.01 <sup>NS</sup>	2.23±0.60 <sup>NS</sup>	0.46±0.14 <sup>a</sup>
OVX-CON	8.96±2.05	0.93±0.15 <sup>ab</sup>	0.76±0.49 <sup>a</sup>	0.76±0.15 <sup>a</sup>	0.03±0.01	1.80±0.10	0.11±0.04 <sup>a</sup>
OVX-ES	7.1±0.43	0.93±0.05 <sup>ab</sup>	1.33±0.32 <sup>b</sup>	0.06±0.10 <sup>a</sup>	0.03±0.00	2.00±0.34	0.31±0.02 <sup>b</sup>
OVX-IE50	9.3±2.98	1.06±0.12 <sup>b</sup>	1.31±0.25 <sup>b</sup>	0.71±0.07 <sup>ab</sup>	0.04±0.02	1.86±0.15	0.11±0.03 <sup>a</sup>
OVX-IE200	7.91±0.63	1.00±0.11 <sup>ab</sup>	1.57±0.28 <sup>b</sup>	0.67±0.07 <sup>ab</sup>	0.04±0.01	1.98±0.21	0.13±0.05 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 2.

<sup>2)</sup>NS: Not significantly.

<sup>3)</sup>Means with different subscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by duncan's multiple range test.

실험동물의 장기 중량을 나타낸 것이다. 간, 신장, 부신, 폐와 비장의 무게는 각 군 간의 큰 차이를 보이지 않았으나 다른 장기의 무게와 달리 자궁의 무게의 경우 난소절제군인 SHAM군이 난소를 절제한 OVX-CON군과 비교하여 유의적으로 높은 자궁무게를 보였으며, estrogen을 투여한 OVX-ES군에서는 OVX-CON군과 비교하여 유의적으로 자궁의 무게가 증가되었다. OVX-CON군에 비해 SHAM 군의 자궁무게 감소원인은 난소 절제로 인한 자궁의 퇴화로 보여지며, 폐 추출물의 투여가 자궁의 무게에는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

폐 추출물이 혈청지질조성에 미치는 영향  
일반적인 경우 건강한 젊은 여성은 같은 나이의 남성에 비

해 총 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 및 중성지방은 낮고, HDL-콜레스테롤은 남성에 비해 상대적으로 높다. 그러나 폐 경에 이르러 중성지방과 HDL-콜레스테롤의 조성에는 대체로 변화가 없으나 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤은 증가되어 폐경 여성의 경우 혈관 관련 질환의 발병률이 높아지는 원인으로 작용하고 있다[41].

폐 추출물이 난소절제 흰 쥐의 혈청의 지질 조성에 미치는 영향을 검토한 결과(Table 6) 혈청 내 총콜레스테롤은 난소절제군(OVX-CON)이 비 난소절제 대조군(SHAM)군과 비교해 유의적으로 증가하였으며, 이에 반해 난소 절제 후 폐 추출물의 투여군이 유의적이지는 않으나 감소하는 경향을 나타내었다. 혈청 중의 중성 지질 함량 또한 난소절제에 의해 유의적으로 증가하였고, 난소 절제 후 폐 추출물 투여로 중성 지질 함량

Table 6. Effect of *Ishige okamurae* ethanol extract on serum total-cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol in ovariectomized rats

Groups <sup>1)</sup>	T-CHO (mg/dl)	TG (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C <sup>2)</sup> (mg/dl)
SHAM	97.33±2.31 <sup>a3)</sup>	32.69±2.08 <sup>a</sup>	68.67±6.51 <sup>NS4)</sup>	35.20±4.39 <sup>b</sup>
OVX-CON	112.25±9.39 <sup>b</sup>	63.75±6.65 <sup>c</sup>	62.33±8.50 <sup>NS</sup>	64.20±9.80 <sup>b</sup>
OVX-ES	104.33±8.74 <sup>ab</sup>	35.33±3.06 <sup>ab</sup>	67.33±5.77 <sup>NS</sup>	44.07±12.94 <sup>a</sup>
OVX-IE50	107.75±3.40 <sup>ab</sup>	47.00±6.38 <sup>b</sup>	69.25±5.97 <sup>NS</sup>	47.90±4.03 <sup>a</sup>
OVX-IE200	106.33±7.51 <sup>ab</sup>	4.25±10.97 <sup>ab</sup>	67.00±4.85 <sup>NS</sup>	45.27±4.88 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 2.

<sup>2)</sup>LDL cholesterol={total cholesterol-(HDL-cholesterol-triglyceride/5)}.

<sup>3)</sup>Means with different subscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>NS: Not significantly.

Table 7. Effect of Ishige okamurae ethanol extracts against collagen induced platelet aggregation

Group <sup>1)</sup>	Amplitude (%)	Slop ( $\Omega$ /min) <sup>2)</sup>	Lag time (sec)
SHAM	75.00 $\pm$ 3.00 <sup>ab3)</sup>	88.60 $\pm$ 11.33 <sup>NS4)</sup>	0:27 $\pm$ 0:01 <sup>NS</sup>
OVX-CON	81.33 $\pm$ 5.22 <sup>b</sup>	97.33 $\pm$ 16.85	0:20 $\pm$ 0:09
OVX-ES	71.80 $\pm$ 7.46 <sup>a</sup>	83.00 $\pm$ 14.67	0:25 $\pm$ 0:07
OVX-IE50	78.43 $\pm$ 6.00 <sup>ab</sup>	87.00 $\pm$ 15.90	0:24 $\pm$ 0:05
OVX-IE200	77.50 $\pm$ 9.91 <sup>ab</sup>	83.20 $\pm$ 6.30	0:25 $\pm$ 0:04

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 2.

<sup>2)</sup>Initial slope is ohm change for the first on minute.

<sup>3)</sup>Means with different subscripts are significantly different at  $p < 0.05$  by duncan's multiple range test.

<sup>4)</sup>NS: Not significantly.

이 유의적으로 감소하는 경향을 보였다. Starzec와 Berger 등은 난소절제가 혈장 콜레스테롤을 증가시켰다고 보고하였고 [40], 난소절제에 의한 estrogen수준저하는 lipoprotein lipase (LPL)과 lecithin : cholesterol acyltransferase (LCAT)를 활성화시켜 LDL-콜레스테롤 합성을 증가시킴으로써 고콜레스테롤혈증을 일으키는 것으로 보고되어 있다[41]. 혈청 중의 HDL-콜레스테롤의 농도 또한 난소절제로 인해 OVX-CON군이 SHAM군에 비해 감소하는 경향을 나타내었으며, 패 추출물 투여군의 경우 OVX-CON군에 비해서 HDL-콜레스테롤 농도는 증가하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. LDL-콜레스테롤 함량은 난소절제군인 OVX-CON군에 비해 SHAM군에 유의적이지는 않으나 낮은 함량을 나타내었고 estrogen 투여로 인해 감소하였다. 패 추출물을 투여한 군도 OVX-CON군에 비해 유의적으로 낮은 함량을 나타내었으며, 이는 패 추출물이 에스트로겐 유사활성을 나타내어 혈 중 지질함량을 개선한 것으로 사료된다. 패 추출물이 혈중지질에 긍정적인 영향을 미쳐 심혈관 질환의 위험률을 저하시킬 수 있는 것으로 기대되나, 향후 투여량의 범위 조절 등에 관한 구체적인 연구가 필요할 것이다.

**패 추출물이 혈소판 응집에 미치는 영향**

폐경기 여성의 예방 및 치료 목적으로 사용되는 여성 호르몬 치료가 정맥 혈전색증과 폐색전증의 발생을 증가시킨다는 보고가 있는데[40] 이는 여성호르몬이 혈액 응고와 관련하여 섬유소 용해를 촉진시키고 플라스미노겐 활성화 억제제-1(pasminogen activator inhibitor-1)을 감소시켜 이롭게 작용하지만 이와는 독립적인 경로로 혈액응고를 활성화시키는 작용이 있어 역효과를 나타낸다[10, 37]. 패 추출물이 난소를 절제할 뉼 쥐의 항 혈전능에 미치는 영향을 검토하였다(Table 7). Washed platelet을 분리한 후 콜라겐 2  $\mu$ g으로 혈소판 응집을 유도하여 측정 한 결과 패 추출물을 투여한 군이 OVX-CON군에 비해 유의적이지는 않으나 혈소판 응집을 억제하는 것으로 나타났다. Amplitude (%)는 각 실험동물의 혈에서 정제된 혈소판만을 분리하여 여기에 콜라겐 2  $\mu$ g/ml을 넣었을 때 일어나는 최대 응집 정도를 나타내는 것으로 난소절제를 한 OVX-

CON군이 난소절제를 하지 않은 SHAM군과 비교하여 증가하였으며, 패 추출물 투여군 모두에서 감소하는 경향을 나타내었다.

Slop ( $\Omega$ /min)은 응집 유도물질인 콜라겐을 넣은 직후부터 1분 동안의 응집곡선의 기울기를 말하며 이는 혈소판이 콜라겐에 대한 민감성을 나타낸다. 이때 응집의 진행과 함께 혈소판이 platinum electrodes에 부착됨으로써 발생하는 전기저항 (impedance:  $\Omega$ )의 크기를 혈소판 응집치로 나타낸다. 난소절제로 인해 OVX-CON군이 비 난소절제군인 SHAM군과 비교하여 Slop가 증가하였지만 패 추출물 투여군에서 모두 감소하였으며, 이것은 패 추출물의 투여가 혈전이나 thrombus의 생성을 막아 혈소판 응집을 억제하는 것으로 사료된다.

응집시간을 나타내는 lag time (sec)은 난소절제에 의해 반응이 일어나는 시간이 짧아졌다. 이는 응집제 첨가에 대한 응집효과가 빨리 나타나 난소절제로 인해 응집효과가 더욱 촉진된 것으로 사료된다. 이에 반해 패 추출물 투여군에서 유의적이지는 않으나 OVX-CON군과 비교하여 응집시간이 지연되었다. 이상과 같이 패 추출물이 난소절제로 인한 혈소판 응집을 증가에 대하여 억제 효과를 나타내었고, 이러한 결과는 패 추출물을 이용하여 혈관 관련성 질환 예방을 위한 식품 소재로써 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

**References**

- Ahn, S. M., Hong, Y. K., Kwon, G. S. and Sohn, H. Y. 2011. Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. *J Life Sci* **21**, 576-583
- Belchetz, P. E. 1994. Hormonal treatment of postmenopausal women. *N Engl J Med* **14**, 1062-1071.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
- Campos, H., Wilson Peter, W. F., Jimenez, D., Mcnanara, J. R., Ordovas, J. and Schaefer, E. J. 1990. Differences in apolipoproteins and low density lipoprotein subfractions in postmenopausal women on and off estrogen therapy: Results from the Framingham off spring study. *Metabolism* **39**, 1033-1038.

5. Chandler, S. F. and Dodds, J. H. 1983. The effect of phosphate, nitrogen and sucrose on the production of phenolics and solasidine in callus cultures of *Solanum laciniatum*. *Plant Cell Rep* **2**, 105-108.
6. Cho, K. J., Lee, Y. S. and Ryu, B. H. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *J Korean Fish Soc* **23**, 345-352.
7. Choi, J. H., Kim, I. S., Kim, J. I. and Yoon, T. H. 1992. Studies on anti-aging action of brown algae (*Undaria pinnatifida*). *J Korean Fish Soc* **25**, 181-188.
8. Choi, S. R., You, D. H., Kim, J. Y., Park, C. B., Kim, D. H. and Ryu, J. 2009. Antioxidant activity of methanol extracts from *Cudrania tricuspidata* Bureau according to harvesting parts and time. *Korean J Med Crop Sci* **17**, 115-120.
9. Choi, S. Y., Lim, S. H., Kim, J. S., Kim, S. R., Kang, K. S. and Hwang, I. K. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* **37**, 549-556.
10. Furie, B. and Furie, B. C. 1988. The molecular basis of blood coagulation. *Cell* **53**, 505-518.
11. Gale, S. K. and Sclakani, A. 1977. Comparison of ovarian and hypothalamic obesity syndromes in the female rat: effect of diet palatability on food intake and body weight. *J Comp Physiol Psychol* **91**, 381-392.
12. Grady, D., Herrington, D., Bittner, V., Blumenthal, R., Davidson, M., Hlatky, M., Hsia, J., Hulley, S., Herd, A., Khan, S., Newby, L. Waters, K. D., Vittinghoff, E. and Wenger, N. 2002. Cardiovascular disease outcomes during 6.8 years of hormone therapy: heart and estrogen/progestin replacement study follow-up (HERS II). *JAMA* **288**, 4957-4963.
13. Hirofumi, T., Hiroake, S., Tatsuya, T. Mari, K. M. Yoshitaka, H. and Akira, T. 1997. Short-term estrogen augments both nitric oxide-mediated and non-nitric oxidated endothelium-dependent forearm vasodilation in postmenopausal women. *J Cardiovasc Pharmacol* **30**, 481-488.
14. Jang, Y. J., Kwon, S. O., Yeo, K. M., Hong, M. J., Kim, B. N. and Han, D. S. 2011. Anti-obesity effect of *Sargassum confusum* ethanol extract in obese rats. *Korean J Food Sci Technol* **43**, 189-194.
15. Jeon, M. H. and Kim, M. H. 2011. Effect of *Hijikia fusiforme* fractions on proliferation and differentiation in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J Life Sci* **21**, 300-308.
16. Joo, D. S., Lee, J. K., Choi, Y. S., Cho, S. Y., Je, Y. K. and Choi, J. W. 2003. Effects of seatangle oligosaccharide drink on serum and hepatic lipids in rats fed a hyperlipidemic diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **32**, 1364-1369.
17. Jung, C. H. 2012. Aging society and labor market. *J Digital Policy Management* **10**, 185-194.
18. Kim, B. M. 2006. Studies on the antioxidant activities of extracts from seaweeds. *Master dissertation*, Kangnung National University, Kangnung, Korea.
19. Kim, C. H., Youn, H. M., Jang, K. J., Song, C. H. and Ahn, C. B. 2004. Inhibitory effect on NO, scavenging effect on DPPH radical in Whallak-tang. *J Korean Acupuncture Moxibustion Soc* **21**, 69-78.
20. Kim, H. S. and Kim, G. A. 1998. Effects of the feeding *Hijikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **27**, 718-723.
21. Kim, K. W. 2009. Effect on metabolic disease factor of fucoidan purified by enzymatic hydrolysis from blown seaweed. Ph.D. *dissertation*, Chonnam National University, Gwangju, Korea.
22. Kim, T. H., Bae, J. S., Lee, H. S., Lee, H. Y., Yoo, B. H., Kim, T. W. and Kim, Y. H. 2012. Evaluation of acetylcholinesterase inhibitory and antioxidative activities of *Rhus javanica*. *Korean J Food Preserv* **19**, 751-756.
23. Kim, Y. M., Do, J. R., Kim, D. S. and Pack, J. H. 2006. Cytotoxicities of hydrolyzed crude laminaran from *Eisenia bicyclis* on the SNU-1, HeLa and SW cells. *Korean J Food Sci Technol* **38**, 793-398.
24. Kim, Y. K. and Kim, M. H. 2007. The effect of *Ecklonia stolonifera* extracts on bone turnover markers in ovariectomized rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **493**, 1769-1775.
25. Koo, J. G., Choi, Y. S. and Kwak, J. K. 2001. Blood-anti-coagulation activity of fucoidans from sporophylls of *Undaria pinnatifida*, *Laminaria religiosa*, *Hizikia fusiforme*, and *Sargassum fulvellum* in Korea. *J Korean Fish Soc* **34**, 515-520.
26. Lee, H. S., Jin, S. H., Kim, H.S. and Ryu, B. H. 1995. Characteristic properties of fucoidan sulfate purified from Gompi, *Ecklonia stolonifera*. *Korean J Food Sci Technol* **27**, 716-723.
27. Lee, S. S. and Park, J. H. 1989. Long-term effect of ovariectomy on body composition. *Korean J Nutr* **22**, 102-107.
28. Lim, S. N., Cheung, P. C. K., Ooi, V. E. C. and Ang, P. O. 2002. Evaluation of antioxidative activity of extracts from brown seaweed, *Sargassum siliquastrum*. *J Agric Food Chem* **50**, 3862-3866.
29. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **47**, 469-474.
30. Mook, D. G., Kenney, N. J., Roberts, S., Nussbaum, A. I. and Rodier, W. I. 1972. Ovarian-adrenal interactions in regulation of body weight by female rats. *J Comp Physiol Psychol* **81**, 192-211.
31. Mueller, K. and Hsiao, S. 1980. Estrus and ovariectomy-induced body weight changes: evidence for two estrogenic mechanisms. *J Comp Physiol Psychol* **94**, 1126-1134.
32. Nakayama, T., Takahashi, M., Fukuyama, Y. and Kinzyo, Z. 1989. An anti-plasmin inhibitor, eckol, isolated from the brown alga *Ecklonia kurome* Okamura (biological chemistry). *J Agric Biologic Chem* **53**, 3025-3030.
33. Newton, K. M., Reed, S. D., Grothaus, L., Guiltinan, J., Ludman, E. and Lacroix, A. Z. 2005. The Herbal Alternatives for Menopause Study (HALT): background and study design. *Maturitas* **52**, 134-146.
34. Osmers, R., Friede, M., Liske, E., Schnitker, J., Feudenstein J. and Henneicke-von Zepelin, H. H. 2005. Efficacy and safety of isopropanolic black cohosh extract for climacteric symptoms. *Obstet Gynecol* **105**, 1074-1083.

35. Park, H. Y., Yun, H. D. and Oh, Y. K. 2001. Effect of meristotheca papulosa on lipid concentration of serum and liver in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **30**, 107-111.
36. Park, J. C., Hur, J. M., Gwon, H. J., Kim, H. J., Chun, S. S., Choi, J. S. and Choi, J. W. 2000. Effects of phloroglucinol isolated from *Ecklonia stolonifera* on the acetaminophen-metabolizing enzyme system in rat. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **29**, 448-452.
37. Rink, T. J. and Sage, S. O. 1990. Calcium signaling in human platelets. *Annu Rev Phys* **52**, 431-499.
38. Rossouw, J. E., Anderson, G. L., Prentice, R. L., LaCroix, A. Z., Kooperberg, C., Stefanick, M. L., Jackson, R. D., Beresford, S. A., Howard, B. V., Johnson, K. C., Kotchen, J. M. and Ockene, J. 2002. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* **288**, 321-333.
39. Stampfer, M. J. and Colditz, G. A. 1991. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease : a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med* **20**, 47-63.
40. Starzec, J. J. and Berger, D. F. 1986. Effects of stress and ovariectomy on the plasma cholesterol, serum triglyceride, and aortic cholesterol levels of female rats. *Phys Behavior* **37**, 99-104.
41. Wakatsuki, A. and Sagara, Y. 1995. Lipoprotein metabolism in postmenopausal and oophorectomized women. *Obstet Gynecol* **85**, 523-528.
42. Writing group for the WHI investigators. 2002. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results from the women's health initiative randomized controlled trial. *JAMA* **288**, 321-333.

초록 : 패 추출물의 항산화 활성 및 난소절제 흰쥐의 혈중 지질 함량 변화에 미치는 영향

김보경 · 김미향\*

(신라대학교 의생명과학대학 식품영양학과)

해조류 중에서 갈조류인 패 추출물을 이용하여 항산화 활성 검증 및 이의 결과를 이용하여 갱년기 유도 흰쥐의 혈중지질 농도, 혈소판 응집력 검사를 통해 그 효과를 검토하고자 하였다. 패 추출물의 항산화 활성은 DPPH 라디칼 소거능 및 SOD 유사활성 측정법을 이용하였다. 동물실험은 7주령 흰쥐를 난소절제 모의 수술군, 난소절제군, 난소절제 후 에스트로젠 투여군, 난소절제 후 패 추출물 50 mg/kg 및 200 mg/kg군의 5군으로 나누어 시술 후 7주간 추출물을 투여하며 사육하였다. 패 추출물의 폴리페놀 함량은 열수 추출물보다 에탄올 추출물의 경우 높은 것으로 나타났다. 항산화 활성 검토 결과, DPPH radical 소거능은 패 열수 및 에탄올 추출물은 용량 의존적으로 증가하였고, 특히 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 항산화 활성이 증가하였다. SOD 유사활성의 경우, 에탄올 추출물의 농도가 1,000 µg/ml일 때 55%로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 열수와 에탄올 추출물의 농도 의존적으로 활성이 증가하는 경향을 나타내었다. 이상과 같이 패 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 폴리페놀 함량, DPPH radical 소거능 및 SOD 유사활성 또한 높은 것으로 나타나, 이를 이용하여 갱년기 유도 동물에 대한 지질 함량 변화에 미치는 영향을 검토하였다. 동물실험 결과 갱년기 유도로 인하여 증가된 혈청 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량은 패 추출물 투여에 의해 저하되었으며, 특히 패 추출물 200 mg/kg bw/day 투여는 혈청 중 중성지방 및 LDL-콜레스테롤 함량을 유의적으로 감소시키는 결과를 나타내었다. 또한 패 추출물의 항 혈전능에 미치는 영향을 검토하기 위해, 난소절제로 인하여 혈 중 지질 함량이 증가한 상태에서 washed platelet을 분리하고 콜라겐으로 혈소판 응집을 유도하였다. 그 결과 패 추출물을 투여한 군이 OVX-CON군에 비해 혈소판 응집을 억제하는 것으로 나타났다. 응집율을 나타내는 amplitude (%)는 난소절제를 한 OVX-CON군이 난소절제를 하지 않은 SHAM군과 비교하여 증가하였으나, 에스트로젠 투여군에서 유의하게 감소하였으며 패 추출물 투여군인 OVX-EB50 및 OVX-EB200군 모두에서 감소하는 경향을 나타내었다. 응집시간을 나타내는 lag time (sec)은 난소절제에 의해 반응이 일어나는 시간이 짧아져, 혈소판 응집이 촉진되는 결과가 나타났다. 이에 반해 패 추출물 투여군인 OVX-EB50 및 OVX-EB200군에서 응집시간이 지연되는 결과가 나타났다. 이상과 같이 패 추출물이 혈중 중성지방, LDL-콜레스테롤 및 혈소판 응집능을 감소시키는 결과로부터 심혈관 질환의 예방 소재로써 개발이 가능할 것으로 기대된다.