

Protective Effect of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor on Excessive Exercise Stress

Yeonmi Lee · Hee-Do Hong · Sang Yoon Choi*

홍경천의 과도한 운동스트레스에 대한 방어효과

이연미 · 홍희도 · 최상윤*

Received: 17 May 2012 / Accepted: 7 August 2012 / Published Online: 31 March 2013
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2013

Abstract *Rhodiola sachalinensis* A. Bor is a plant naturally grows in a high mountain areas. Aim of this study was to evaluate the effects of *R. sachalinensis* A. Bor extract against excessive exercise induced stress. *R. sachalinensis* A. Bor extract significantly inhibited L6 muscle cell death and ATP reduction caused by H₂O₂ damage. In addition, the oral administration of *R. sachalinensis* A. Bor extract in mice improved the 43.9% of treadmill running time and blood profiles of glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, lactate dehydrogenase, creatinine, lactate when compared to distilled water. These results suggested that *R. sachalinensis* A. Bor can attenuate excessive exercise induced damage.

Keywords ATP · exercise · *Rhodiola sachalinensis* A. Bor · L6

서 론

규칙적이고 적절한 운동은 고혈압, 뇌졸중, 심혈관질환, 당뇨, 고지혈증, 암 등의 예방 및 완화에 도움을 준다고 알려져 있다 (Bassuk and Manson, 2005; Roberts and Barnard, 2005). 그러나 과격한 운동을 하게 되면 과도한 활성산소가 생성되며 이로 인해 근육조직 등에 산화적 손상을 일으키게 된다 (Ji, 1996; Hyun, 2009). 활성산소는 super-oxide radical, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, singlet oxygen 과 같은 산소화합물을 총칭하는 것으로, 정상적인 대사과정에서도 생산되고 여러 생체기능을 수행하지만, 과도하게 생성된 활성산소는 세포막의 주성분인

지질의 과산화를 일으켜 조직손상을 유발하고 세포내 핵산의 DNA 염기서열에 문제를 일으킨다 (Djordjevi, 2004). 인체는 이러한 산화적 손상에 대한 방어체제로서 superoxide reductase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소를 생산하여 스스로를 보호하나 보호능력은 연령 및 건강상태에 따라 크게 다르다 (Irshad and Chaudhuri, 2002; Urso and Clarkson, 2003). 항산화 방어체계에 도움을 주는 항산화제로는 비타민 C, β-caroten 등이 알려져 있다.

홍경천 (*Rhodiola sachalinensis* A. Bor)은 유럽과 아시아의 고산지대에서 서식하는 피자식물문 (Angiospermae) 돌나물과 (Crassulaceae) 돌꽃속 (*Rhodiola*)에 속하는 다년생 초본이며 우리나라에서는 주로 해발 1,700-2,300 m의 백두산 지대에서 자생하고 있다. 홍경천의 성분으로 알려진 것은 salidroside, tyrosol 등이 있고 민간에서는 홍경천을 해열제, 진정제, 수렴제로 사용하여 왔으며 항산화, 항암, 항균, 항당뇨, 간독성보호 활성이 있다고 보고된 바 있다 (Bae, 2005; Lee 등, 2005; Park 등, 2005; Li 등, 2008). 특히 Ryu 등 (2008), Lee 등 (2009)과 Jung 등 (2008)은 강제유명한 흰쥐의 피로회복 및 시상하부의 IEGs 발현억제효과를 보고한 바 있으나 아직까지 산화적 손상에 의한 근육세포보호 및 Treadmill 운동지속에 대한 연구는 미비한 실정이다.

본 연구에서는 홍경천 추출물이 근육세포에서 활성산소에 대한 방어효과를 나타내는지 L6 muscle cell 에서 과산화수소와 함께 처리 후 세포생존율에 미치는 영향을 측정하여 확인하였다. 또한 마우스에 홍경천 추출물을 경구투여 후 Treadmill에서의 운동지속시간 및 혈액지표에 미치는 영향을 측정하여 운동능력 증진효과를 나타내는지 여부를 확인하고자 하였다.

Y. Lee · H.-D. Hong · S. Y. Choi
Korea Food Research Institute 516 Baekhyeon-dong, Bundang-gu, Seongnam
463-746, Republic of Korea

*Corresponding author (S. Y. Choi: sychoi@kfri.re.kr)

재료 및 방법

실험시료의 제조. 홍경천은 2010년 백두산 부근에서 채취된 것

을 중국 연변대학교에서 확인 후 제공받아 사용하였으며 뿌리 부분을 분쇄기(Cyclotec™ 1093, Foss Co., Denmark)를 사용하여 분쇄 후 증류수를 사용하여 90°C에서 3시간 동안 환류추출 하였다. 얻어진 추출액은 여과지(Watman No. 2)로 여과 후 감압농축하여 추출물을 제조하였다.

세포배양. 근육세포인 L6 cell line은 한국세포주은행에서 분양받아 사용하였으며 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS (Fetal bovine serum, Gibco, USA), 1% AA (Antibiotic Antibiotics, Gibco)를 포함한 DMEM (Dubecco's modified Eagle's Medium, Gibco)을 사용하여 배양 하였다.

세포생존율 측정. 세포생존율 측정은 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide] assay 방법을 사용하였다. 근육세포에 대한 홍경천의 보호효과를 알아보기 위하여 L6 cell 을 1×10⁵ cells/mL의 농도로 96 well plate에 접종하고 24 시간 동안 배양한 후 각각의 농도의 홍경천 추출물과 1.5 mM H₂O₂를 동시에 처리하고 다시 24시간 동안 배양시킨 후 MTT (0.5 mg/mL in phosphate buffered saline (PBS)) 용액으로 염색시켜 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 홍경천 추출물의 L6 세포 보호효과는 과산화수소 처리시의 세포사멸률에 대한 홍경천 추출물 처리시의 회복율을 산출하여 백분율(%)로 나타내었다.

Adenosine triphosphate (ATP) 생성량 측정. L6 세포에서의 ATP 생성량 측정은 ATP bioluminescence assay kit HS II (Roche, Germany) 을 사용하여 측정하였다. L6 cell을 1×10⁵ cells/mL의 농도로 96 well plate에 seeding하고 24시간 동안 배양한 후 각각의 농도의 홍경천 추출물과 1.5 mM H₂O₂를 동시에 처리하고 다시 24시간 동안 배양시킨 후 세포를 lysis 시켜 ATP bioluminescence assay를 실시하고 luminometer (Molecular Devices, USA) 를 사용하여 흡광도를 측정하였다.

실험동물. 35 g 내외의 7주령 imprinting control region (ICR) 마우스 수컷을 중앙실험동물로부터 분양받아 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사육조건은 온도 23°C, 습도 50%, 명암주기 12시간 이었고 실험기간 중 음식 및 사료는 자유로이 섭취시켰으며 체중은 1주일마다 측정하였다.

운동시험. Treadmill을 이용하여 유산소성 운동부하 실험을 실시하였다. 운동시험에 적응을 위한 예비운동 실험으로 1일차 5 m/분의 속도로 5분간, 2일차 10 m/분 속도로 10분간, 3일차 15 m/분 속도로 15분간, 4-5일차 20 m/분 속도로 20분간 운동을 시키면서 운동능력이 현저히 떨어지는 개체는 탈락시켰다. 예비운동을 거쳐 선정된 동물을 운동미실시군, 운동군, 운동+홍경천 추출물 섭취군의 세 그룹으로 나누어 진행하였으며 각 군당 6 마리로 구성하였다. 6일차부터 2주간 오전에 증류수에 녹인 홍경천 시료를 200 mg/kg 농도로 경구투여하고 3시간 후에 20 m/분의 속도로 20분간 운동을 시켰다. 마지막날 운동 직후 안와채혈 하고 2000 g/10분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후 -70°C에 보관하였다가 분석에 사용하였다.

혈액분석. 혈장시료내 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), creatinine, lactate 함량을 (주)아인즈솔루션에 의뢰하여 혈액분석기(HITACHI, 7020, Japan)를 이용하여 colorimetry 방법으로 분석하였다. GOT, GPT, lactate 분석시약은 Wako (Japan), creatinine 분석시약은 Daiichi (Japan)에서 구입하여 사용하였다.

통계처리. 본 연구의 결과는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며 통계적 유의성은 ANOVA 분석을 실시하여 검증하였다.

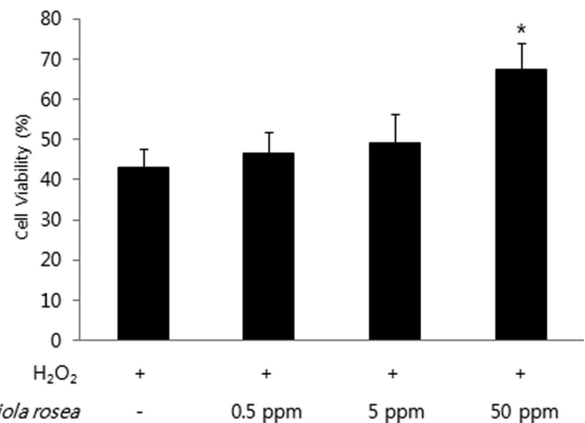


Fig. 1 Protective effects of *Rhodiola rosea* against H₂O₂-induced oxidative damage in L6 muscle cells. L6 cells were treated with 1.5 mM H₂O₂ and test samples for 24 h. The data represents the mean ± SE of three experiments. **p* < 0.05

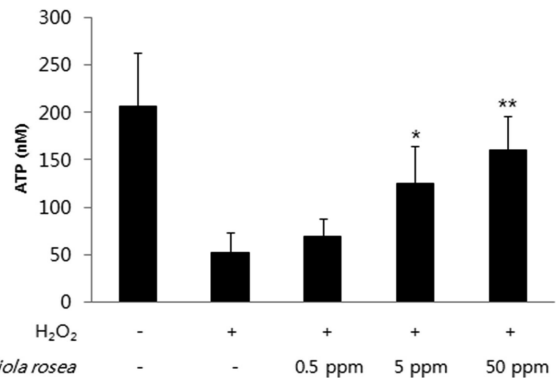


Fig. 2 Effects of *R. rosea* on ATP production in L6 muscle cells. The data represents the mean ± SE of three experiments. **p* < 0.05, ***p* < 0.01

결과 및 고찰

근육세포 보호효과. 과격한 운동은 과도한 활성산소를 발생시키며 이로 인해 근육조직 등이 산화적 손상을 받게 된다. 홍경천 추출물이 근육세포보호효과를 나타내는지 여부를 확인하기 위하여 L6 근육세포를 이용하여 hydrogen peroxide로 유발한 산화적 손상에 대한 방어효과를 측정하였다. 먼저, L6 세포에 홍경천 시료를 50 ppm 농도로 처리하여 세포사멸을 일으키지 않음을 확인한 후 1.5 mM의 hydrogen peroxide 과 함께 0.5, 5, 50 ppm의 홍경천 시료를 24시간 처리한 결과 1.5 mM의 hydrogen peroxide만을 처리한 L6 세포는 56.8%의 세포를 사멸시켰으나 홍경천 추출물을 함께 처리시 농도의존적으로 세포의 사멸이 감소하였다(Fig. 1). 홍경천 추출물의 세포사멸 억제율은 0.5, 5, 50 ppm에서 각각 3.5, 5.8, 24.3% 으로 나타났다.

근육세포에서의 ATP 생성량에 미치는 영향. 운동에 필요한 에너지원이자 세포의 생존에 필수적으로 필요한 ATP 생성량을 L6 세포에서 측정된 결과, hydrogen peroxide로 인하여 감소된 L6세포의 ATP 생성량을 홍경천 추출물을 처리시 효과적으로 증가시킬 수 있었다(Fig. 2). 이는 앞서 Fig. 1의 세포 생존율의 증가량과 비교할 때 동일농도에서의 ATP 생성량의 증

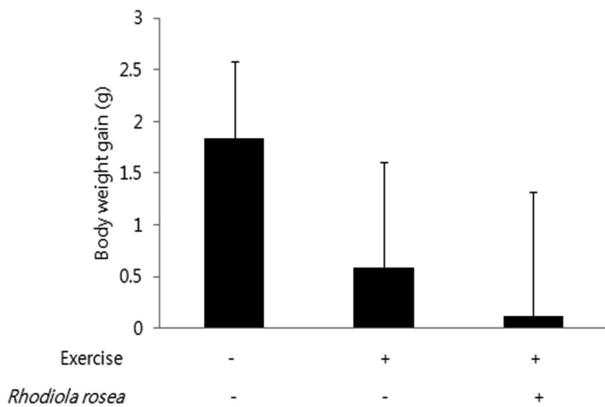


Fig. 3 Effects on body weight gain in mice (after 2 weeks). The data represents the mean ± SE (n=6).

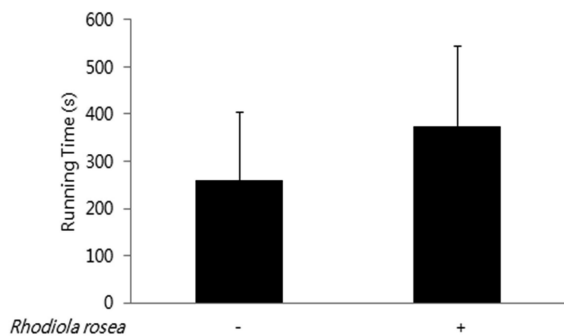


Fig. 4 Effects on running time of mice (after 2 weeks). The data represents the mean ± SE (n=6).

가량이 월등히 높아 홍경천 추출물은 근육세포의 ATP 생성량을 효과적으로 증가시킴을 확인할 수 있었다.

실험동물의 운동능력 및 혈액지표에 미치는 영향. 홍경천 시료 투여 2주후의 몸무게의 변화량 및 treadmill 주행시간(treadmill에서 3초 이상 이탈하는데 까지 걸리는 시간)은 Fig. 3과 4에 나타내었다. 몸무게의 변화량은 운동미실시군이 1.84 g 늘어나 가장 큰 폭으로 증가하였으며, 운동군과 운동 + 홍경천 섭취군의 몸무게 증가량은 각각 0.58, 0.12 g이었다. Treadmill 주행시간은 통계적인 유의성은 나타나지 않았으나 홍경천 섭취군이 증류수를 투여한 운동군에 비하여 43.9% 증가하였고 혈액분석결과 역시 통계적인 유의성은 나타나지 않았으나 운동군은 운동미실시군에 비하여 GOT, GPT, lactate dehydrogenase (LDH), creatinine, lactate 농도가 모두 증가하였고 운동 + 홍경천 섭취군은 운동으로 인하여 증가된 GOT, GPT, LDH, creatinine, lactate 량을 감소시켰다(Table 1).

초 록

본 연구결과에서 홍경천 추출물은 L6 근육세포에서 산화적 손상으로 인한 세포사멸과 ATP 생성량 감소를 유의적으로 억제 하였을 뿐만 아니라 마우스에 2주간 200 mg/kg 농도로 경구투여시 통계적으로 유의하지는 않았으나 treadmill 운동시간을 증가시켰고 glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, lactate dehydrogenase, creatinine, lactate 등의 혈액지표를 개선시켰다. 따라서 홍경천은 과도한 운동 스트레스로 인한 손상을 억제할 수 있는 소재로서의 큰 가능성을 가지고 있는 것으로 판단된다.

Keywords 운동 스트레스 · 홍경천 · ATP · L6 근육세포

참고문헌

Bae SJ (2005) Anticarcinogenic and antioxidant effects of *Rhodiola sachalinensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **34**, 1302-7.
 Bassuk SS and Manson JE (2005) Epidermiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol* **99**, 1193-204.
 Djordjevi VB (2004) Free radicals in cell biology. *Int Rev Cytol* **237**, 57-89.
 Hyun KY (2009) An association of changed levels of inflammatory markers with hematological factors during one-time aerobic exercise in twenty-aged young men. *J Life Sci* **19**, 1658-65.
 Irshad M and Chaudhuri PS (2002) Oxidant-antioxidant system: role and significance in human body. *Indian J Exp Biol* **40**, 1233-9.
 Ji LL (1996) Exercise, oxidative stress, and antioxidants. *American J Sports Med* **24**, 20-4.
 Jung HS, Kim EY, Shim ES, Lee HS, Moon EJ, Jin ZH et al. (2008) Effects of *Rhodiola rosea* (KH101) on anti-fatigue in forced swimming rats. *Korean J Orient Int Med* **29**, 922-38.
 Lee EJ, Im JS, Park CK, Jeon BS, and Kyung JS (2005) Anti-hepatotoxic activity of sachalinensis Roots. *Food Industry and Nutrition* **10**, 37-42.
 Lee FT, Kuo TY, Liou SY, and Chien CT (2009) Chronic *Rhodiola rosea* extract supplementation enforces exhaustive swimming tolerance. *Am J Chin Med* **37**, 557-72.
 Li HB, Ge YK, Zheng XX, and Zhang L (2008) Salidroside stimulated glucose uptake in skeletal muscle cells by activating AMP-activated protein kinase. *Eur J Pharmacol* **588**, 165-9.
 Park KU, Yoon JH, Kim JY, Jeong CH, Park CK, Song WS et al. (2005) Biological activity of the fractions extracted from *Rhodiola dumulosa*. *Korean J Food Preserv* **12**, 496-500.
 Roberts CK and Barnard RJ (2005) Effects of exercise and diet on chronic disease. *J Physiol* **536**, 329-37.
 Ryu SH, Kim SY, Jung HS, Sohn NW, and Sohn Y (2008) Effects of *Rhodiola rosea* on anti-fatigue and hypothalamic IEGs expressions of forced swimming rats. *Korean J Herbology* **23**, 9-19.
 Urso ML and Clarkson PM (2003) Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology* **15**, 41-54.

Table 1 Changes of Blood Biochemical Elements Levels

	GOT (U/L)	GPT (U/L)	LDH (U/L)	Creatinine (mg/dL)	Lactate (mmol/L)
NE	122±41	90±28	371±139	3.1±0.5	5.8±0.8
E	151±32	115±22	395±89	3.5±0.5	7.0±0.9
E+RS	120±44	98±42	388±154	3.1±1.1	6.4±1.9

NE: No exercise group, E: Exercise group, E+RS: Exercise and *R. rosea* feeding group, E+FRS: Exercise and fermented *R. rosea* feeding group, n=6.