

The Improvement Effect of Fermented *Angelica gigas* Nakai Powder Against Orotic Acid-induced Fatty Liver in Rats

Hee-Young Ahn, Kyu-Rim Park and Young-Su Cho*

Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received March 5, 2014 / Revised March 25, 2014 / Accepted April 3, 2014

This study was to investigate the potential effects of fermented *Angelica gigas* Nakai (FAG) at 5% (w/w) levels in Sprague-Dawley strain rats, which were intoxicated with 1% (w/w) orotic acid (OA) for 10 days. The activities of several hepatic enzymes, including aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), lactate dehydrogenase (LDH), and cholinesterase were increased when OA was treated, but these parameters were significantly decreased by FAG administration. OA treatment induced a significant increase in the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels, which was attenuated by FAG administration. Liver nonheme iron was decreased in the OA treatment group and was significantly increased in FAG administration, which suggests that lipid peroxidation contents are inversely correlated with liver nonheme iron content. The glutathione concentration was significantly decreased in the OA treatment group compared with the normal group, but this concentration was significantly increased in the FAG group, and it showed the antioxidant ability of glutathione. Based on these results, fermented *Angelica gigas* Nakai is a material with significant potential for development into a health food that can improve fatty liver conditions.

Key words : *Angelica gigas* Nakai, fermentation, fatty liver, *Monascus purpureus*, orotic acid

서 론

최근 들어 비만자 또는 음주가 잦은 사람 중 뚜렷한 증상이 없지만 간 기능 검사에 이상이 있거나, 지방간으로 진단되는 환자가 늘고 있다. 지방간은 쉽게 치료되기도 하지만 대부분 장기간에 걸쳐 심각성을 깨닫지 못하고 방치하여, 간 섬유화를 유발하며 심하면 간경화증 또는 간암에까지 이르게 되는 것으로 보고되고 있다[16].

지방간은 크게 알코올성 지방간과 비알코올성 지방간으로 분류한다. 알코올성 지방간은 간조직에 지방세포들이 밀집되어 있으며, 이러한 지방축적은 간에서 중성지방(triglycerides)의 합성증가와 지단백(lipoproteins) 합성 후 혈중 분비 장애와 더불어 말초 지방조직으로부터 유리된 지방이 간으로 많이 유입되는 반면 지방산 산화과정은 오히려 저하되기 때문에 생기는 것으로 알려져 있다[28]. 한편, 비알코올성 지방간은 비만, 스테로이드, 항경련제 등의 약물, 영양실조, 당뇨병 등 다양한 원인으로 발생할 수 있다[2]. 이는 무증상 환자가 우연히 진단되는 경우가 많았고, 원인을 알 수 없는 만성 간염의

원인 중 70~90%가 비알코올성 지방간에 의한 것이라는 보고가 있을 정도로 흔한 간질환이며, 단순한 지방증(steatosis)도 지방간염과 섬유화, 간경변증으로 진행하여 사망까지 초래할 수 있다는 것이 밝혀져 관심을 모으고 있다[10, 28].

Orotic acid는 carbamyl phosphate와 aspartic acid 등의 폐환 반응에 의하여 생성된 pyrimidine nucleotide 생합성의 중간생성물로서[25], 고 sucrose 식이 중에 1% 수준으로 첨가하여 흰쥐에 1주일 이상 섭취시켰을 때 간장에 중성지방이 이상적으로 축적되어 지방간을 유발시키는 것으로 알려져 비알코올성 지방간 모델로 널리 사용되어 지고 있다[9].

유용 식물자원으로 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본인 당귀(*Angelica gigas* Nakai)는 주로 한국, 중국, 일본에서 한방 생약재로 많이 사용되고 있으며, 예로부터 질병치료와 건강증진 목적으로 널리 이용 되어왔으며, 약성이 따뜻하고, 맛은 달며, 무독하여 부작용이 없는 우리나라의 대표적인 생약재로써 감초 다음으로 많이 사용되고 있는 약재로 수록되어 있다[15]. 국내에서 자생되고 있는 참당귀의 한방 생리적 약효성분으로는 coumarine계의 decursin, decursinol angelate, nodakenetin, nodakenin, umbelliferone, β -sitosterol, α -pinene, limonene 등이 함유되어 있다[18]. Coumarine 유도체 중에서 decursin, decursinol angelate는 가장 풍부한 구성요소로 antibacterial [20], antiangiogenic [17], antitumor [19] 등의 약리적인 효과가 보고 되어있다. 참당귀의 주요 약효성분인 decursin과 decursinol angelate의 수율을 향상시키기 위하여 다양한 추출 및 정제방법에 관한 연구가 활발히 진행되

*Corresponding author

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

E-mail : choys@dau.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.

고 있으며, 저자들의 이전 연구에서도 유용균주를 이용하여 참당귀 분말을 발효시킨 결과 decursin과 decursinol angelate의 함량이 증가함을 확인하였다[8, 14].

따라서 본 연구에서는 *Monascus purpureus* 발효 참당귀의 orotic acid 유발 지방간 개선 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 발효조건

당귀 (*Angelica gigas* Nakai)는 산청 산청약초연구소(경남, 산청)에 의해 제공되었다. *Monascus purpureus* KCCM1002 (*M. purpureus*)는 한국 미생물 보존센터에서 구입하였다. *M. purpureus*의 전배양은 PDA agar로부터 spores를 백금이를 이용하여 glucose 10%, peptone 5%, KNO₃ 2%, NH₄H₂PO₄ 2%, MgSO₄·7H₂O 0.5% 그리고 CaCl₂ 0.1%가 포함되어 있는 500ml flask에 접종시켜 배양하였다. 배양은 30°C에서 72시간 150 rpm의 조건으로 하였다. 전배양시킨 *M. purpureus*는 당귀 뿌리분말에 5% 접종하여, 30°C에서 12일간 발효시켰다. 한편, 이전연구에서 당귀의 건조된 뿌리와 *M. purpureus* 발효 당귀 뿌리의 가장 풍부한 구성요소는 coumarin 유도체의 decursin과 decursinol angelate라는 것을 보여 주었고, 발효하지 않은 당귀분말의 추출액보다 발효된 당귀분말의 추출액에서 marmesin, decursinol angelate 및 decursin함량이 높은 것으로 나타났다[8, 14].

실험동물, 식이조성 및 사육조건

실험동물은 6주령의 Sprague-Dawley계 수컷 (♂) 대한 바이오링크(충북 음성, 한국)에서 구입하여 온도 22±2°C, 습도 50±5%, 명암주기 12시간(명주기: 07:00~19:00)이 자동 설정된 동물 사육실에서 사육하였다. 식이 조성은 Table 1 과 같으며, 정상군(N), 오르트산 투여 대조군(OA), 오르트산+당귀 분말 5% (w / w) 투여군(AG), 오르트산+ *M. purpureus* 발효 당귀분말 5% (w / w) 투여군(FAG) 으로 각 군마다 6마리씩 나누고, 식이와 물은 10일간 자유 섭취시켰다. 사육 기간 중 식이 섭취량은 매일 측정하였고, 체중은 3일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다. 본 연구는 동아대학교 동물실험 윤리심의 위원회의 승인(승인번호: DIACUC-승인-13-29)을 받아 진행하였다.

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 분

Table 1. Compositions of experimental diets (%)

Component	N	Orotic acid		
		OA ^a	AG ^b	FAG ^c
Casein	20	20	20	20
Cornstarch	15	15	10	10
Sucrose	45	44	44	44
Cellulose	5	5	5	5
Corn oil	10	10	10	10
Mineral mixture ^d	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture ^e	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
<i>Angelica gigas</i>	0	0	5	0
<i>Monascus purpureus</i>	0	0	0	5
Fermented <i>Angelica gigas</i>				
Orotic acid	0	1	1	1
Total (%)	100	100	100	100

^aOA: Orotic acid

^bAG: Orotic acid+*Angelica gigas*

^cFAG: Orotic acid+*Monascus purpureus* fermented *Angelica gigas*

^dAIN 93 M-MX mineral mix, MP Biomedicals, Illkirch, France

^eAIN 93 VX vitamin mix, MP Biomedicals, Illkirch, France

석시료로 제공 하였다.

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 4 배량 첨가하여 마쇄 균질액을 제조하였다. 분획한 homogenate 생체막의 과산화지질 함량은 전보의 방법[24]에 준하여 정량하였다. 즉, 각 조직 homogenate 분획 용액 1 ml에 각각 thio-barbituric acid (TBA) 시약 2 ml을 가하여 잘 혼합하고, 수조상에서 30분간 가열한 후 실온에서 방냉하여 3,000 rpm으로 10분간 원심분리 한 상등액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 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°C 회화로에서 3시간 회화시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산분해시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건고물에 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[5].

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[11].

결과 및 고찰

체중, 식이 및 음료 섭취량 변화

Orotic acid 1% 수준을 첨가하여 지방간을 유도한 흰쥐에 *M. purpureus* 발효 당귀분말(FAG군)이 미치는 영향을 살펴보기 위해 대조군인 발효시키지 않은 일반당귀분말(AG군)과 함

께 5% 농도를 10일간 기본식이에 첨가하여 급여하였다. Orotic acid는 간장의 중성지질 증가와 체중 감소에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다[6]. 본 실험에서는 정상군(N군)보다 OA대조군(OA군)의 체중이 유의적인 차이는 없지만 증가 경향을 보여 상이한 결과를 보였다. 최종 체중 증가량을 비교해 볼 때 OA 대조군에 비해 AG 군과 FAG 군에서 유의적인 감소차이를 보였다. Guo 등의 보고에 따르면, *angelica*의 또 다른 종, *Angelica sinensis*를 의존 복용 방식으로 3T3-L1에서 adipocytes에 지방 축적을 감소 시키는 효과를 확인하였고, *Angelica gigantis*의 뿌리에서 분리한 decursin, decursinol angelate가 mouse의 복막의 대식세포에서 지질 축적 억제에 영향을 있다는 것을 확인하였다[13]. 한편, OA 실험군에서 식이 섭취량은 모두 감소하는 반면, 음료 섭취량은 증가하였다. 이러한 결과로 보아 orotic acid 유발 지방간에서 AG와 FAG의 5% 첨가는 체중 증가량뿐만 아니라, 식이 섭취량 및 음료 섭취량에도 영향을 미치는 것으로 사료된다(Table 2).

각 장기의 무게

각 장기의 체중에 대한 상대중량(%)을 Table 3에 나타내었다. 간장의 무게는 기본 식이를 투여한 N군과 비교해서 orotic acid 1% 투여한 OA군에서는 유의적으로 증가하여 중성지질의 축적에 의한 지방간 유발이 확인되었다[6]. 그러나 OA군과 비교해 AG군과 FAG군이 유의적으로 감소하여 중성지질의

Table 2. Effect of AG and FAG on body weight, body weight gain, food intake and water consumption in orotic acid-induced fatty liver rats

	N	OA	AG	FAG
Initial body weight (g)	243.62±3.92 ^a	244.42±2.87 ^a	243.69±2.19 ^a	243.22±2.24 ^a
Final body weight (g)	298.63±3.90 ^a	306.24±1.71 ^a	268.02±2.16 ^b	266.90±3.46 ^b
Body weight gain (g)	55.01±4.42 ^a	61.83±3.38 ^a	22.12±2.01 ^b	23.68±1.95 ^b
Food intake (g/day)	20.00±0.00 ^a	19.34±0.51 ^a	12.90±0.38 ^b	13.17±0.24 ^b
Water consumption (ml/day)	27.43±1.42 ^{ab}	24.85±1.25 ^b	31.33±2.61 ^a	32.08±1.08 ^a

Abbreviations are the same as in Table 1.

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

Table 3. Effects of AG and FAG on the tissues relative weight in orotic acid-induced fatty liver rats (% of terminal BW)

	N	OA	AG	FAG
Liver	3.46±0.15 ^b	5.02±0.22 ^a	4.72±0.26 ^a	4.71±0.26 ^a
Kidney	0.76±0.01 ^{ab}	0.74±0.03 ^b	0.78±0.02 ^{ab}	0.82±0.03 ^a
Heart	0.38±0.01 ^a	0.36±0.02 ^a	0.36±0.02 ^a	0.36±0.01 ^a
Spleen	0.21±0.02 ^a	0.20±0.01 ^a	0.20±0.02 ^a	0.19±0.01 ^a
Testis	1.00±0.03 ^a	0.98±0.01 ^a	1.05±0.03 ^a	1.04±0.04 ^a
Epididymal WAT	1.44±0.06 ^a	1.47±0.03 ^a	0.98±0.04 ^b	0.94±0.03 ^b
Perirenal WAT	1.33±0.06 ^a	1.49±0.06 ^a	0.66±0.12 ^b	0.68±0.08 ^b

Abbreviations are the same as in Table 1.

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

축적을 감소시킴으로써 이들의 식이첨가로 인해 지방간의 개선효과가 나타났으나, N군보다는 약간 증가하는 경향을 보였다. 한편, 심장, 비장, 고환의 무게는 각 실험군간 차이는 인정되지 않았으나, 신장에서 FAG군의 무게가 유의적인 차이를 보였으며, 신장 주변 지방조직 및 고환 주변 지방조직의 경우 정상군과 OA군에 비해 AG군과 FAG군에서 감소수치를 보였다. 이러한 결과는 AG군과 FAG군이 실험동물의 체지방 축적의 억제에 효과적이라는 것을 보고하는 바이다.

혈청 중의 AST, ALT, LDH, ALP 및 Choline esterase 활성 변화

간장 손상의 임상적 지표로 사용되고 있는 AST, ALT, LDH, ALP 및 Cholinesterase 활성 측정을 통하여 간장기능 효능을 검증한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 혈청 AST 및 ALT 활성은 간장 손상으로 인한 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것으로 간장손상지표의 중요한 단서가 된다[3].

간 기능의 지표효소들은 AG 또는 FAG군에서 유의적으로 감소하였다. N군에 비해 OA군에서 AST, ALT, LDH의 활성이 증가되었고, 특히 FAG 식이 첨가 군에서는 AST, ALT, LDH의 수치가 OA군에 비해 감소하였다. 이는 당귀를 발효시킴으로써 decursin 및 decursinol angelate의 함량이 증가됨에 따른 biotransformation의 영향이라 사료된다. Nakata 등의 연

구에서도 *Angelica keiskei* powder (1,700 mg/100 g body weight)를 28일 동안 식이 첨가 한 군이 식이 첨가하지 않은 군에 비해 AST, ALT의 활성이 감소하였다고 보고되었다[23]. 따라서 AG 또는 FAG군 투여는 orotic acid 식이 첨가로 증가된 AST, ALT, LDH, ALP 및 Cholinesterase 활성을 유의적으로 감소시킴으로써 orotic acid 유발 간장 질환을 개선할 수 있는 건강식품 소재로 활용할 가능성이 있는 것으로 사료되어진다.

각 조직의 과산화지질 농도 변화

간 조직에서 산화스트레스의 측정 지표로 사용되고 있는 과산화지질 농도 변화는 알코올성 또는 비 알코올성 간 질환 유발과 밀접한 관련성을 가지는 것으로 알려져 있다[4]. OA도 지방간을 일으키는 주요 물질로 알려져 있어 간 조직 내에서 과산화지질의 농도 변화를 가져올 것으로 예상된다. 각 조직으로부터 균질물을 얻어 과산화지질 농도를 측정할 결과 OA 대조군에서 간, 신장, 비장, 심장, 고환 조직 및 혈청에서 모두 정상군에 비해 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다. 그에 반해 AG군과 FAG군에서 OA군에 비해 유의적으로 감소한 수치를 보였으며 특히 간, 신장, 비장 조직 및 혈청에서 OA 투여로 인해 증가된 과산화지질 농도가 FAG 군에서 현저히 감소하는 결과를 얻었다(Fig. 2). *Angelica gigantis*의 뿌리에서 분리한 decursin, decursinol angelate가 mouse의 복막의 대식

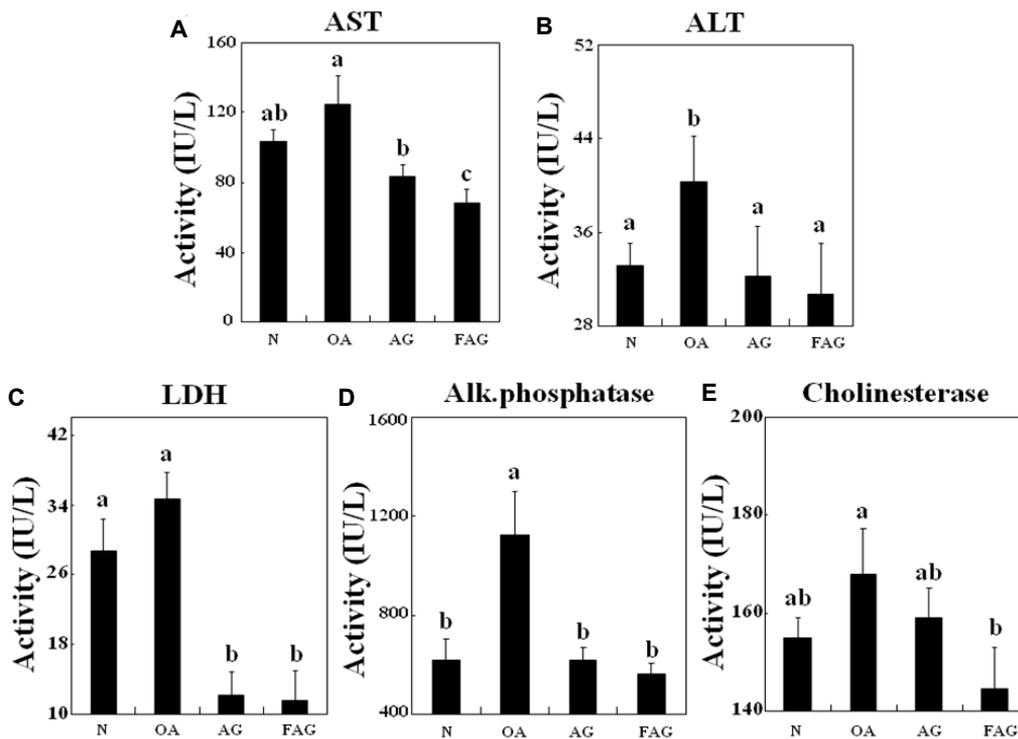


Fig. 1. Effects of AG and FAG on the serum enzyme activities of AST (A), ALT (B), LDH (C), Alk.phosphatase (D) and Cholinesterase (E) in orotic acid-induced fatty liver rat. Abbreviations are the same as in Table 1. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean \pm S.E., n=6).

세포에서 지질 축적 억제에 영향이 있는 것으로 보고 되었으며[13], 본 실험에서도 *M.purpureus*균주로 발효하여 decursin 및 decursinol angelate 함량을 높인 당귀 분말의 과산화지질 억제효과를 확인하는 바이다. 이러한 결과는 이전의 알코올 급여 간독성 실험에서도 동일한 결과를 얻음으로써 *M.purpureus*균주로 발효된 당귀 분말에 높은 항산화 효과가 있다는 것을 의미하는 것이다. 간장 독성의 정도를 나타내는 지표인 ALT 및 AST 활성과 같이 간 조직중의 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 기능저하에 의해 간질환 등의 여러 가지 질병을 초래하여 노화나 유전적 장애의 원인이 되는 것으로 알려져 있다. 이러한 지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물 등에 의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전으로서 세포 내 유리 라디칼 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소로 인해 야기되는 산화적 스트레스의 증가에 기인한다고 하였다 [26]. 또한 간장 조직은 체내로 흡수된 모든 영양성분과 알코올, 약물 등을 포함하는 외인성 물질을 분해시켜 독성을 경감시키는 주요 작용을 하기 때문에 이 과정에서 다양한 독성 물질에 노출될 기회가 많아 체내에서 이들의 주된 축적 부위로 알려져 있으며, 이 때문에 항산화제가 저하되어 지질과산화물을 생성하는데 좋은 환경을 제공함으로써 조직의 손상을

초래할 수가 있다고도 하였다[26].

비헴철 및 아연 함량 측정

천연에 존재하는 필수 미량원소로 지방산화를 촉진시키는 물질로 알려져 있는 철은 체내 H₂O₂를 제거하는 catalase의 구성 성분이며, 체내의 비타민 C의 함량과 H₂O₂의 농도차에 의해서 과산화지질 반응에 영향을 미치는 것으로 보고된 바 있어 생체 내 과산화지질 반응을 조사하는데 있어서 비헴철 함량 측정은 중요한 요인으로 시사되어 있다[22]. 간 조직 중의 비헴철 함량은 정상군인 N군에서 0.59 ppm에 비해 OA군은 0.33 ppm으로 유의적으로 감소하였으며, 이러한 감소는 AG과 FAG의 급여로 유의적으로 감소하였으며, 그 중 FAG군에서 높은 수치를 나타내었다(Table 4). 간 조직 중의 지질과산화물 함량은 철분 함량에 의해 영향을 받는다는 결과가 보고된 바 있으며, 본 실험에서도 OA군에서 간 조직 중의 비헴철 함량과 지질과산화물 함량의 상관관계를 입증하였다. 한편, 생체 내 항산화 물질로 잘 알려져 있는 간 조직 중의 아연 농도 [12]는 N군에서 0.32 ppm에 비해 OA군은 0.26 ppm으로 유의적으로 감소하였으며, AG군에서 0.31 ppm 및 FAG군에서 0.38 ppm으로 실험군간에는 유의적인 차이가 관찰되지 않았으나 FAG군에서 약간 증가 경향을 보였다.

그러나 신장 조직 내에서 아연 농도는 각 실험 군 간에 통계상의 유의적인 차이는 없었다. 간 조직은 과산화지질이나 유리기를 만들어 내 조직 손상을 일으키는 동시에 세포 내 항산

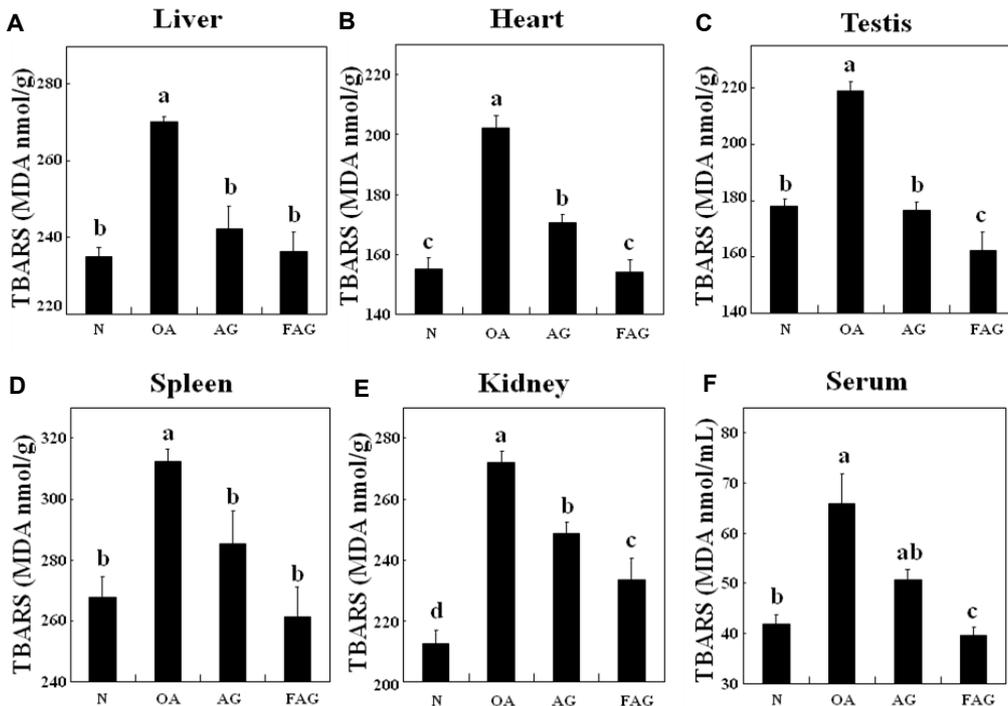


Fig. 2. Effects of AG and FAG on TBARS in tissue (A, B, C, D, E) and serum (F) of orotic acid-induced fatty liver rats. Abbreviations are the same as in Table 1. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean \pm S.E., n=6).

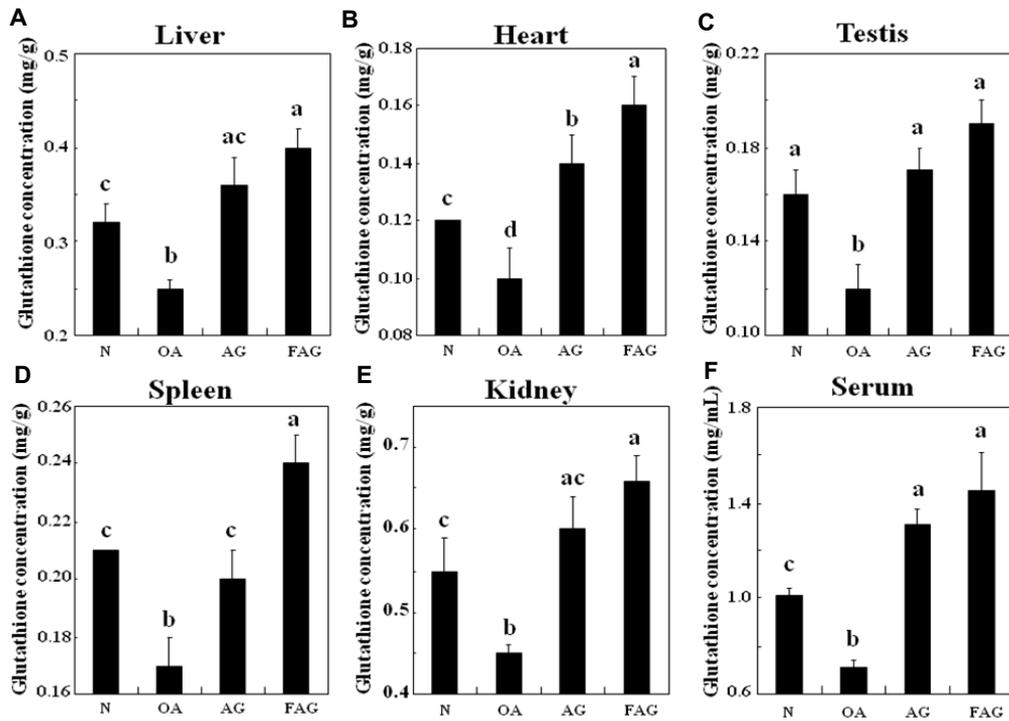


Fig. 3. Effects of AG and FAG on glutathione concentrations in tissue (A, B, C, D, E) and serum (F) of orotic acid-induced fatty liver rats. Abbreviations are the same as in Table 1. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean \pm S.E., $n=6$).

Table 4. Effect of AG and FAG on the nonheme iron and zinc contents in orotic acid-induced fatty liver rats (ppm)

	N	OA	AG	FAG
Liver				
Zn	0.32 \pm 0.03 ^a	0.26 \pm 0.05 ^a	0.31 \pm 0.04 ^a	0.38 \pm 0.07 ^a
Fe	0.59 \pm 0.05 ^a	0.33 \pm 0.03 ^b	0.43 \pm 0.06 ^c	0.53 \pm 0.04 ^{ac}
Kidney				
Zn	0.29 \pm 0.00 ^b	0.24 \pm 0.01 ^b	0.27 \pm 0.00 ^b	0.34 \pm 0.03 ^a
Fe	0.40 \pm 0.01 ^a	0.31 \pm 0.01 ^b	0.33 \pm 0.01 ^b	0.42 \pm 0.03 ^a

Abbreviations are the same as in Table 1. Values with different letters are significantly different at $p < 0.05$ (mean \pm S.E., $n=6$).

화 방어 시스템이 작동함으로써 이를 경감시키는 작용도 함께 일어나는 조직이다[7].

조직 및 혈중 glutathione 농도 변화

간은 지질 대사에서 중심적인 역할을 수행하고, 유리기 생산에 의해 조직 손상을 일으키는 동시에 세포 내 항산화 방어 시스템이 작동함으로써 이를 경감시키는 작용도 함께 일어나는 조직이다[4]. 간 조직에서 glutathione은 L-glutamate, L-cysteine 및 glycine으로 구성된 non-protein thiol tripeptide의 항산화 물질로 최근의 연구에서 동물 간 조직에서 독성제거 반응을 통한 항산화 방어계에서 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다[7]. 조직 내 glutathione 수준은 지질과산화

농도, 활성 유리기 및 다른 산화기의 독성 작용으로부터 세포를 방어하는 항산화 시스템과 밀접하게 관련되어 있다. 체내 항산화작용 물질로 잘 알려진 간 조직의 glutathione 농도는 정상 N군에 비해 OA군에서 유의적으로 감소하였으나, 이러한 감소현상은 AG군과 FAG군에서 증가경향을 보였고, 특히 *M.purpureus*군주로 발효된 당귀 분말 급여군인 FAG군에서 높은 glutathione 함량을 보였다(Fig. 3). 지방간 모델 흰쥐는 정상군에 비해 간 조직 및 혈중 glutathione 농도를 낮춘다. 그러나 OA 투여에 의한 간 조직 및 혈중 glutathione 농도의 감소는 각각의 당귀와 발효당귀 투여에 의해 정상군 수준이나 더 높은 수준으로 회복되는 것으로 나타났다. 이전의 연구에서도 glutathione 고함유 효모 투여가 사염화탄소 및 알코올 투여로 인한 간 손상을 효과적으로 막는 것으로 보고한 바 있다[7, 27]. OA 유발 지방간 흰쥐에 특히 *M.purpureus* 발효 당귀 분말로 인한 과산화지질 농도의 감소는 항산화 활성의 증가와 밀접한 관련성을 가지는 것으로 보이며 간 질환 개선 효과에도 큰 영향을 미칠 것으로 사료된다. 당귀의 주요 약리 성분인 decursin이 미생물 발효에 의해 증가된 것은 발효 과정 중에 다른 물질로부터 전환되었을 가능성과 효소적 작용으로 성분 상호간의 결합이 분해되면서 용출이 용이해져 함량이 증가되었을 가능성이 있지만 정확한 기작에 대해서는 좀 더 심도 있는 검토가 있어야 할 것으로 추측된다[8].

감사의 글

본 연구는 동아대학교 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. A.O.A.C. 1975. *Official methods of analysis*. 12th eds., Association of official analytical chemists. Washington D. C., USA.
2. Augulo, P. 2002. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Eng J Med* **346**, 1221-1231.
3. Baldi, E., Burra, P. and Plebani, M. 1993. Serum malondialdehyde and mitochondrial aspartate aminotransferase activity as markers of chronic alcohol intake and alcoholic liver disease. *Ital J Gastroenterol* **25**, 429-432.
4. Balkan, J., Kanbagli, O., Aykac-Toker, G. and Uysal, M. 2002. Taurine treatment reduces hepatic lipids and oxidative stress in chronically ethanol treated rats. *Biol Pharm Bull* **25**, 1231-1233.
5. Beutler, E., Duron, O. and Kelly, B. M. 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* **61**, 882-888.
6. Bunang, Y., Wang, Y. M., Cha, J. Y., Nagao, K. and Yanagita, T. 2005. Dietary phosphatidylcholine alleviates fatty liver induced by orotic acid. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **21**, 867-873.
7. Cha, J. Y., Kim, H. S., Kang, S. C. and Cho, Y. S. 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., Kim, H. W., Heo, J. S., Ahn, H. Y., Eom, K. E., Heo, S. J. and Cho, Y. S. 2010. Ingredients analysis and biological activity of fermented *Angelica gigas* Nakai by mold. *J Life Sci* **20**, 1385-1393.
9. Cha, J. Y., Maeda, Y., Oogami, K., Yamamoto, K. and Yanagita, T. 1998. Association between hepatic triacylglycerol accumulation induced by administering orotic acid and enhanced phosphatidate phosphohydase activity in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* **62**, 508-513.
10. Clark, J. M., Brancati, F. L. and Diehl, A. M. 2002. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* **122**, 1649-1657.
11. Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **1**, 1-42.
12. Goel, A., Dani, V. and Dhawan, D. K. 2005. Protective effects of zinc on lipid peroxidation, antioxidant enzymes and hepatic histoarchitecture in chlorpyrifos-induced toxicity. *Chem Biol Interact* **156**, 131-140.
13. Guo, A. J., Choi, R. C., Cheung, A. W., Li, J., Chen, I. X., Dong, T. T., Tsim, K. W. and Lau, B. W. 2009. Stimulation of apolipoprotein A-IV expression in Caco-2 / TC7 enterocytes and reduction of triglyceride formation in 3T3-L1 adipocytes by potential anti-obesity Chinese herbal medicines. *Chin Med* **4**, pp. 5.
14. Heo, J. S., Cha, J. Y., Kim, H. W., Ahn, H. Y., Eom, K. E., Heo, S. J. and Cho, Y. S. 2010. Bioactive materials and biological activity in the extracts of leaf, stem mixture and root from *Angelica gigas* Nakai. *J Life Sci* **20**, 750-759.
15. Hong, M. W. 1972. Statistical studies on the formularies of oriental medicine (I) prescription frequency and their origin distribution of herb drugs. *Korean J Pharmacol* **3**, 57-64.
16. Isselbacher, K. J. and Podosky, D. K. 1991. *Harrison's principles of internal medicine*, pp. 1352-1355, McGraw Hill. New York.
17. Jung, M. H., Lee, S. H., Ahn, E. M., Lee, Y. M. 2009. Decursin and decursinol angelate inhibit VEGF-induced angiogenesis via suppression of the VEGFR-2-signaling pathway. *Carcinogenesis* **30**, 655-661.
18. Kim, K. M., Jung, J. Y., Hwang, S. W., Kim, M. J. and Kang, J. S. 2009. Isolation and purification of decursin and decursinol angelate in *Angelica gigas* Nakai. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **38**, 653-656.
19. Lee, S., Lee, Y. S., Jung, S. H., Shin, K. H., Kim, B. K. and Kang, S. S. 2009. Antitumor activities of decursinol angelate and decursin from *Angelica gigas*. *Arch Pharm Res* **26**, 717-730.
20. Lee, S., Shin, D. S., Kim, J. S., Oh, K. B. and Kang, S. S. 2003. Antibacterial coumarins from *Angelica gigas* roots. *Arch Pharm Res* **26**, 449-452.
21. Li, Y. G., Ji, D. F., Chen, S. and Hu, G. Y. 2008. Protective effects of sericin protein on alcohol-mediated liver damage in mice. *Alcohol Alcohol* **43**, 246-253.
22. Murakami, A., Kishimoto, M., Kawaguchi, M., Matsuura, T. and Ichikawa, T. 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.
23. Nagata, J., Morino, T. and Saito, M. 2007. Effects of dietary *Angelica keiskei* on serum and liver lipid profiles and body fat accumulation in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **53**, 133-137.
24. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* **95**, 351-358.
25. Pottenger, L. A. and Getz, G. S. 1971. Serum lipoprotein accumulation in the livers of orotic acid fed rats. *J Lipid Res* **12**, 450.
26. Rouach, H., Fataccioli, V., Gentil, M., French, S. W., Morimoto, M. and Nordmann, R. 1997. Effect of chronic ethanol feeding on lipid peroxidation and protein oxidation in relation to liver pathology. *Hepatology* **25**, 351-355.
27. Shon, M. H., Cha, J. Y., Lee, C. H., Park, S. H. and Cho, Y. S. 2007. Protective effect of administrated glutathione-enriched *Saccharomyces cerevisiae* FF-8 against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Food Sci Biotechnol* **16**, 967-974.
28. Spiro, H. M. 1983. *Clinical Gastroenterology*, pp. 1312, 3rd eds., Macmillan Publishing Co., New York.

초록 : Orotic acid 유발 흰쥐 지방간 개선에 미치는 발효당귀의 효과

안희영 · 박규림 · 조영수*
(동아대학교 생명공학과)

Monascus purpureus 균주에 의해 발효된 당귀분말을 Orotic acid-유발 지방간의 개선 효과를 알아보기 위해 식이에 5% 수준으로 첨가하여 10일간 급여한 후 혈중 및 조직 내 산화 스트레스에 미치는 영향에 대하여 검토하였다. 체중 증가량과, 식이 섭취량은 각 OA실험군 모두 감소 하였으나, 음료섭취량은 증가하였다. 간 기능 지표로 활용되는 혈중 AST, ALT, LDH, ALP 및 Cholinesterase 활성 변화 역시 정상 수치와 비슷한 수준으로 감소되었다. 각 조직과 혈청의 과산화지질(TBARS)을 측정한 결과 OA대조군에 비해 각 실험군에서 유의적으로 감소하였으나, 그 중 발효당귀분말을 투여한 FAG군에서 가장 낮은 함량을 보였다. 또한 미네랄 측정 결과 비헴철과 아연을 정상수치로 되돌려주는 기능이 있었으며, Orotic acid 지방간 유발로 인해 저하된 글루타치온 함량을 높여주는 것을 확인할 수 있었다. 이상의 실험결과 발효당귀는 간 조직 내 항산화 물질 증가에 의한 산화스트레스를 경감시킴으로써 향후 간 독성 개선 효능을 가지는 건강식품 개발 가능성이 높은 소재로 판단되어진다.