

## 곰보배추섭취가 고지방과 고콜레스테롤 식이 랫드에서의 항산화 효소활성 및 산화적 손상에 미치는 영향

송원영 · 최정화\*

한국국제대학교 영양식품학과

### Effects of *Salvia plebeia* R. Br. on Antioxidative Enzyme Activities and Oxidative Damage in Rats Fed High-Fat and High-Cholesterol Diets

Won-Yeong Song and Jeong-Hwa Choi\*

Department of Nutrition Food, International University of Korea, Jinju 52833, Korea

(Received July 11, 2018/Revised July 19, 2018/Accepted July 25, 2018)

**ABSTRACT** - The purpose of the present study was to investigate the effect of *Salvia Plebeia* R. Br. (SP) powder on the antioxidative defense system and oxidative stress in rats which were fed a high fat-high cholesterol diet. Accordingly, the rats were divided into four experimental groups which were composed of a high fat-high cholesterol diet group (HF), HF diet with 5% SP powder supplemented group (PA), a HF diet with 10% SP powder supplemented group (PB), and a normal group (N). Consequently, the hepatic catalase activity of the HF group was decreased compared to the normal group (N), but it is recorded that of the PA and PB groups were significantly increased. With this in mind, the PA and PB groups resulted in the case of significantly increased activities of hepatic GSH-px and SOD. The hepatic superoxide radical and hydrogen peroxide contents of the PA and PB groups were significantly decreased, as compared to the HF group. The GOT and GPT activities of the PB group were also significantly decreased when thus compared to the HF group. Notably, the carbonyl values contents of the PA and PB groups were significantly reduced compared to the HF group. The hepatic TBARS values in the liver were significantly reduced as measured in the PA and PB groups. These results suggest that the SP powder may reduce the incidence of oxidative damage, by the activation of an antioxidative enzyme in rats fed with high fat-high cholesterol diets.

**Key words** : Antioxidative, Free radical, Oxidative stress, *Salvia Plebeia* R. Br

최근 식생활이 급속도로 서구화가 되어지면서 고지방 및 고콜레스테롤 식이 섭취가 증가되어지고 있다. 이러한 식생활로 인하여 한국인의 비만율의 증가와 함께 고혈압, 동맥경화와 같은 순환기계 성인병 및 당뇨, 케양과 같은 소화기계 성인병 발병률이 끊임없이 증가하고있다<sup>1)</sup>. 특히 혈중 지방, 콜레스테롤 및 지단백의 증가는 불균형한 지질대사를 초래하지만 이러한 지질대사는 결국 체내 여러 조직의 산화적 손상을 일으키고 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) 및 catalase (CAT) 등의 항산화효소 활성과 밀접한 관계가 있는 항산화방어계의 불균형을 일으키게 된다고 보고하였다<sup>2)</sup>. 이러한 규명으로 고콜레스테롤 식이섭취가 산화적 스트레스를 유발하여 체

내 조직의 산화적 손상을 초래하고, 콜레스테롤 식이로 유도된 쥐에서 또한 생체 내 활성산소의 축적으로 균형이 깨어진 항산화방어계와 free radical생성계는 산화적 손상을 유발하였다는 보고가 있다<sup>3)</sup>. 조직의 산화적 손상은 체내 활성산소의 지속적인 축적으로 정상적인 생리상태를 유지할 수 없는 데, 지방 또한 체내로 과도하게 축적되게 되면 지질과산화물이 형성되고 체내 산화스트레스를 증가시켜 활성산소종(reactiveoxygen species; ROS)을 생성하여 조직 내 세포를 손상시킨다<sup>4)</sup>. 이러한 이유로 항산화 물질 개발에 다양한 연구가 지속적으로 진행되어지고 있는 데, 인공적인 항산화제는 장기적인 섭취로 인한 부작용에 대한 우려로 인해 최근 높은 생리활성도를 가지며 안전성이 검증된 식물 유래 천연 항산화물질에 대해 관심이 커지고 있다<sup>5,6)</sup>.

곰보배추(*Salvia plebeia* R. Br.)는 꿀풀과 식물에 속하는 설건초의 전초로 일년생 혹은 이년생 직립초목으로 우리

\*Correspondence to: Jeong-Hwa Choi, Department of Nutrition Food, International University of Korea, Jinju 52833, Korea  
Tel: 82-55-751-8326, Fax: 82-55-751-8205  
E-mail: jhappychoi@hanmail.net

나라 전 지역의 개울가, 논밭이나 들, 주로 습한곳에 자생하는 약용식물이다<sup>7)</sup>. 주로 계절적으로 봄에서 여름철 사이에 채취하여 햇볕에 말려 사용하는 곱보배추는 배암차즈기, 수양이, 뱀배추, 여지초, 뱀차조기등의 매우 다양한 이름을 가지고 있다<sup>8)</sup>. 한방에서는 여지초라하여 양혈, 이수, 해독, 살충, 화상, 동경, 간장, 자궁출혈 등에 쓰이기도 하는 곱보배추의 유용한 약리효과를 나타내는 성분들은 특히 homoplantaginic, rosmarinic acid, luteolin, nepetin, nepitrin, nepetin-7-glucoside, hispidulin, eupatorin, luteolin-7-glucoside, caffeic acid, coniferyl aldehyde, saponin, 플라보노이드, 페놀성물질, 정유, 강심배당체, 불포화 sterol 등이 있으며, 종자에는 지방유를 함유하고 있다고 보고되어졌다<sup>9)</sup>. 최근 곱보배추에 대한 연구로 곱보배추 추출물의 호흡기보호효과<sup>10)</sup>, 지방세포 분화 및 지방축적 억제효과<sup>11)</sup>, 항염증효과<sup>12)</sup>, 항당뇨효과<sup>13)</sup>, 항암효과<sup>14)</sup>, 항산화효과<sup>15)</sup>에 대한 보고가 되어지고 있지만 이러한 여러 연구들에도 불구하고 추출물에 의한 효과로 국한되어있으며, 특히 고지방·고콜레스테롤식이로 산화가 유도된 흰쥐의 생체조직 수준에서의 항산화활성에 대한 연구는 미흡하다. 그리하여 본 연구에서는 고지방·고콜레스테롤 식이로 산화손상이 유도된 흰쥐에 곱보배추를 농도별로 공급하여 생체 내 항산화 효소 농도의 변화 및 이에 따른 항산화 활성을 규명하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 곱보배추 파우더 제조

본 실험에서 사용한 곱보배추는 경상남도산청군에서 재배된 것을 사용하였다. 실험에 사용하기 위해 곱보배추를 먼저 선별 및 세척한 후 -40°C에서 6-12시간 급속 동결시킨 후, 10°C에서 8-12시간, 20°C에서 8-12시간, 35°C에서 12-24시간 진공 건조하였다. 건조된 곱보배추를 분쇄기를 이용하여 60 mesh가 되게 분쇄하여 사용하였다.

### 실험동물 사육 및 식이

본 실험에 사용된 동물은 체중 130 ± 10 g 내외의 4주령 Sprague-Dawley 종 수컷 40마리를 (주)바이오 제노믹스사 (Bio genomics, Inc., Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 환경에 적응시키기 위해 실험식이 시작 전 일주일간 일반배합사료(Purina Co., Seoul, Korea)로 예비 사육한 후 평균체중이 유사하도록 난괴법(randomized complete block design)에 의해 대조군과 실험군으로 나눈 후 군별로 10마리씩 4주간 사육하였다. 실험 기간 중 식이는 4°C에서 보관하였다. 사육실의 온도는 22 ± 2°C, 상대습도 50 ± 10%를 유지하였다. 식이 groups은 정상군(N 군)과 1% 고지방·고콜레스테롤 식이 실험군으로 나눈 후 고지방·고콜레스테롤 실험군은 고지방·고콜레스테롤 대조군(HF 군), 고

**Table 1.** Diet compositions of experimental groups (g/kg diet)

| Ingredient                    | Groups <sup>1)</sup> |       |       |       |
|-------------------------------|----------------------|-------|-------|-------|
|                               | N                    | HF    | PA    | PB    |
| Corn starch                   | 539                  | 429   | 379   | 329   |
| Casein                        | 200                  | 200   | 200   | 200   |
| Sucrose                       | 100                  | 100   | 100   | 100   |
| Cellulose                     | 50                   | 50    | 50    | 50    |
| Mineral mixture <sup>2)</sup> | 35                   | 35    | 35    | 35    |
| Vitamin mixture <sup>3)</sup> | 10                   | 10    | 10    | 10    |
| DL-methionine                 | 3                    | 3     | 3     | 3     |
| Choline chloride              | 3                    | 3     | 3     | 3     |
| Corn oil                      | 60                   | 60    | 60    | 60    |
| Cholesterol                   | 0                    | 10    | 10    | 10    |
| Lard                          | 0                    | 100   | 100   | 100   |
| <i>Salvia Plebeia</i> R. Br.  | -                    | -     | 50    | -     |
| <i>Salvia Plebeia</i> R. Br.  | -                    | -     | -     | 100   |
| Total                         | 1,000                | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

<sup>1)</sup>N: Normal diet.

HF: High-fat-High-cholesterol diet.

PA: High-fat-High-cholesterol diet+5% of *Salvia Plebeia* R. Br.

PB: High-fat-High-cholesterol diet+10% of *Salvia Plebeia* R. Br.

<sup>2)</sup>AIN mineral mixture (g/kg mixture).

<sup>3)</sup>AIN vitamin mixture (g/kg mixture).

지방·고콜레스테롤식이+5% 곱보배추파우더공급군(PA군), 고지방·고콜레스테롤+10% 곱보배추파우더공급군(PB군)으로 총4군으로 나누어 사육하였다. 식이구성은 Table 1과 같고 식이 및 식수는 자유 섭식하게 하였다. 본 동물실험은 한국국제대학교 동물실험 윤리위원회의 승인(NVRQS AEC13)을 거쳐 진행하였다.

### 혈액 및 장기의 채취

사육기간 완료 후 실험동물을 12시간 절식시키고 가벼운 ether 마취 하에서 복부대동맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 간장을 적출하여 생리식염수로 헹군 후 가제로 수분을 제거하고 무게를 측정하였다. 간 조직은 실험에 사용하기 전까지 무게를 측정한 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다.

### 분석 시료의 전처리

간장을 각 간엽에서 고르게 일정량을 취하여 Potter Elvehjem homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose/0.5 mM ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA)/5 mM N-2-hydroxyethyl-piperazine-N-2-ethane sulfonic acid (HEPES) 용액으로써 10% (w/v) 마쇄 액을 만들었다. 마쇄 액의 일부를 8,000 ×g에서 20분간 원심분리 하여 그 상층 액을 과산화지질 정량에 사용하였고, 나머지는 10,000 ×g에서 30

분간 원심분리 하여 그 상층액 중 일정량을 취하여 0.4배량의 ethanol:chloroform 냉혼합액(5:3)을 가하고 2분간 진탕한 다음 10,000 ×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 상층액을 세포질 SOD원액으로 사용하였다. 또 10,000 ×g상층액의 일부는 다시 105,000 ×g에서 30분간 원심분리 하여 얻은 cytosol은 GSH-px의 활성도를 측정하였다. 모든 실험 조건은 4°C를 유지하면서 행하였다.

### SOD, GSH-px, CAT활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund<sup>16)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. GSH-px활성은 산화형 glutathione (GSSG)이 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 340 nm에서 NADPH의 흡광도가 감소하는 것을 이용한 Lawrence와 Burk<sup>17)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 간조직의 CAT 활성은 Aebi<sup>18)</sup>의 방법으로 측정하였다. 즉 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0) 2.89 ml에 기질인 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 100 μL를 넣어 25°C에서 5분간 반응시켰다. 여기에 시료 10 μL를 가하여 3.0 mL가 되도록 하고 25°C, 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 흡광도 변화와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 몰흡광계수로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다.

### Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Superoxide radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 함량 측정

간조직 중의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 O<sub>2</sub><sup>-</sup>함량을 측정하기 위하여 1 g의 간 조직을 0.25 M sucrose 용액으로 균질화시킨 후 8,000 ×g에서 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻은 후 다시 105,000 ×g에서 원심분리하여 cytosol과 microsome 분획을 얻었다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성량 측정은 Gay와 Gebicki<sup>19)</sup> 방법에 따라 xylenol orange를 이용하여 560 nm에서 흡광도 증가로 측정하였다. O<sub>2</sub><sup>-</sup>함량 측정은 Azzi 등<sup>20)</sup>의 방법에 준해 실시하였다.

### 혈청 중 GOT 및 GPT 활성

혈청 GOT와 GPT 활성도는 아산제약(Seoul, Korea)의 kit를 사용하여 측정하였다. 즉 GOT 기질로 L-aspartate와 α-ketoglutaric acid, GPT 기질로 D,L-alanine과 α-ketoglutaric acid 용액에 각각 혈청을 가하여 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 효소반응을 시킨 후 생성된 oxaloacetate 및 pyruvic acid에 2,4-dinitrophenyl hydrazine 정색시약과 0.4 N NaOH를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에 10분간 방치한 후 505 nm에서 비색정량을 하였다.

### Carbonyl value 측정

간조직의 microsome 및 mitochondria 중의 산화된 단백질의 함량은 Levine<sup>21)</sup> 등의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 mL

의 시료에 trichloroacetic acid (TCA) 0.5 ml를 혼합한 후 1,200 ×g에서 10분간 원심분리하여 얻어진 상층 액을 제거한 뒤 잔사에 다시 10 mM 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) 0.5 mL 가하여 15분마다 교반하면서 1시간 동안 실온에 방치한 후 1,200 ×g에서 10분간 원심분리하였다. 이때 얻어진 상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (1:1, v/v) 3 mL를 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 다음 다시 1,200 ×g에서 10분간 원심분리한 후 얻어진 잔사를 6 M guanidine [20 mM potassium phosphate buffer (pH 7.3)에 용해] 1.0 mL를 첨가하여 혼합한 후 37°C의 항온수조에서 15분간 가온한 후 1,400 ×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl value의 양은 360 nm 흡광도의 파장에서 분자흡광계수(ε = 22,000)를 이용하여 계산하였다.

### Thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) 정량

간 조직에서의 과산화지질 정량은 간조직의 마쇄액을 8,000 ×g에서 처리하여 얻은 상층액과 TCA용액을 섞은 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 0.05 M 황산으로 세척한 후 그 침전물과 thiobarbituric acid (TBA)와 반응하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satho<sup>22)</sup>법을 이용하였다.

### 단백질 정량

각 시료의 단백질량은 Lowry 등<sup>23)</sup>의 방법으로 하였으며, bovine serum albumin을 표준물질로 사용하였다.

### 통계처리

3회 반복실험에 대한 모든 실험결과와 통계처리는 각 실험군의 평균값의 차이를 검증하기 위해 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 Tukey's HSD test<sup>24)</sup>에 의해 실험군 간의 유의도를 분석하였다.

## Results and Discussion

### 간조직중의 SOD, GSH-px 및 CAT 활성

Jeong 등<sup>25)</sup>의 연구에서 곰보배추는 전처리로 데친 후 건조한 것에 비해 데치지 않고 건조한 시료에서 더 높은 항산화 활성도를 나타내었으며, Rhee 등<sup>26)</sup>의 연구에서 사용된 무청 연구에서도 건조시킨 무청 파우더를 2.5~10%의 농도로 식이에 첨가한 결과 5% 및 10%의 공급에서 높은 항산화력을 나타내었다. 선행연구로 최근 뱀달기풀 파우더를 공급한 흰쥐의 산화능을 측정한 결과에서 또한 5% 및 10%의 농도에서 높은 활성도가 관찰되었기에<sup>27)</sup>, 본 연구에서도 곰보배추를 건조한 파우더를 시료로 하여 5% 및 10%로 각각 공급하여 실험을 행하였다. 생체 내 주된 활성산소인 슈퍼옥사이드(superoxide) 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 산소와

**Table 2.** Effects of *Salvia Plebia* R. Br. on hepatic superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px) and catalase activities in rats fed high fat and high cholesterol diets

| Groups | SOD (unit/mg protein/min) | GSH-px (nmol NADPH/min/mg protein) | Catalase (nmol/mg protein/min) |
|--------|---------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| N      | 7.057 ± 1.68 <sup>a</sup> | 57.91 ± 3.79 <sup>c</sup>          | 7.710 ± 1.22 <sup>b</sup>      |
| HF     | 4.802 ± 1.09 <sup>b</sup> | 68.77 ± 4.28 <sup>b</sup>          | 6.772 ± 0.67 <sup>b</sup>      |
| PA     | 8.537 ± 1.07 <sup>a</sup> | 82.32 ± 2.58 <sup>a</sup>          | 11.87 ± 0.71 <sup>a</sup>      |
| PB     | 8.226 ± 1.12 <sup>a</sup> | 83.67 ± 4.28 <sup>a</sup>          | 13.47 ± 0.94 <sup>a</sup>      |

Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means ± SE (n = 10).

<sup>a-c</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 세포 내 주요 항산화 효소인 SOD를 측정된 결과는 Table 2와 같다. 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 유의하게 감소되었으나, 곰보배추 파우더를 5%, 10%로 각각 공급한 PA, PB군에서 정상군 수준으로 유의적으로 증가되었다. 지용성비타민 E와 과산화물을 제거해 생체 내 세포막의 손상을 방어하는 GSH-px의 활성을 관찰한 결과(Table 2), 고지방·고콜레스테롤 식이공급으로 감소된 활성이 곰보배추를 공급한 모든 군에서 유의하게 증가되어졌다. 생체 내 적혈구나 간에서 비교적 높은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 산화적 손상으로부터 보호하고, 대사과정 중 발생하는 활성산소의 유리기 제거에 관여하는<sup>28)</sup> catalase의 활성변화의 관찰결과(Table 2), 곰보배추파우더를 공급한 모든 군에서 HF군에 비해 catalase의 농도가 유의하게 증가되었다. 고지방 및 고콜레스테롤의 과도한 섭취는 산화적 스트레스를 촉진한다는 여러 보고<sup>15,22)</sup>에서와 같이 고지방·고콜레스테롤 식이 공급으로 대표적 항산화 효소 활성이 모두 정상군에 비해 감소되어졌으나 곰보배추의 공급으로 증가되는 것을 관찰 할 수 있었다. Rhee 등<sup>26)</sup>의 연구에서 생리활성 성분이 풍부한 무청 파우더의 공급은 고콜레스테롤식으로 감소된 SOD 및 GSH-px의 활성을 증가시켰으며 Won의 연구<sup>29)</sup>에서는 곰보배추 열수추출물의 공급이 혈액 및 간조직 내 GSH-px의 활성을 증가시켰다. Park의 연구<sup>29)</sup>에서도 고지방식으로 감소된 간조직 내 catalase의 농도가 오가피 추출물의 공급으로 정상군 수준까지 증가되는 결과를 보였으며, Park 등<sup>30)</sup>의 보고에서 또한 플라보노이드 등이 풍부한 신선초 및 케일의 녹즙파우더는 콜레스테롤 식이로 감소된 흰쥐의 간조직 내 catalase 농도를 증가시켰는데, 이러한 연구들의 결과는 곰보배추 파우더를 공급한 본 연구의 결과와 일치하였다. 그러나 Won의 연구<sup>29)</sup>에서와 같이 본 연구에서 모든 항산화효소 측정에서 농도 의존적인 차이는 나타나지 않았다. 5% 및 10%에서 곰보배추 내 함유된 활성성분의 차이로는 생체 내 항산화효소의 활성도 차이를 나타내지는 못한 점을 미루어 독성이 없는 범위 내 더 높은 농도에서 관찰이 필요하다고 판단된다. 곰보배추에는 플라보노이드와 페놀성물질 등이 다량 함유되어 있는데<sup>9)</sup>, 곰보배추에 함유된 이러한 생리활성성분은 체내

항산화효소의 활성을 증가시키는 데 기여하였으리라 사료된다.

### 간조직의 superoxide radical 함량

Superoxide radical은 활성산소종 생성의 주요한 원인으로 생체 내 조직이나 DNA, 단백질 및 지방산에 손상을 초래하여 세포막의 다가불포화 지방산 등에 관여하여 지질과산화물을 생성하고 결국 세포의 기능의 손상까지 유발시키는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 간조직의 mitochondria 및 microsome에서 superoxide radical 함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. Mitochondria에서는 정상군에 비해 고지방·고콜레스테롤군에서 유의적으로 증가되어졌으나, 곰보배추를 5%, 10%의 농도로 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소되어졌다. Microsome에서 또한 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되었으나 곰보배추파우더를 공급한 모든 군에서 유의적으로 감소되어졌으며, 특히 곰보배추 파우더를 5%로 공급한 군에 비해 10%로 공급한 군에서 유의적으로 감소되어져 공급군 간에도 농도별로 유의한 차이를 관찰 할 수 있었다. Lim 등<sup>15)</sup>의 연구에서는 곰보배추 메탄을 추출물에서 높은 폴리페놀 함량을 관찰하였고, 특히 활성산소에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 전자공여능 또한 우수함을 보고하였다. 또한 곰보배추의 메탄을 추출물을 920 µg/mL의 농도에서 관찰한 결과 62.11%의 superoxide radical 소거능을 보였다<sup>15)</sup>. Jeong 등<sup>25)</sup>

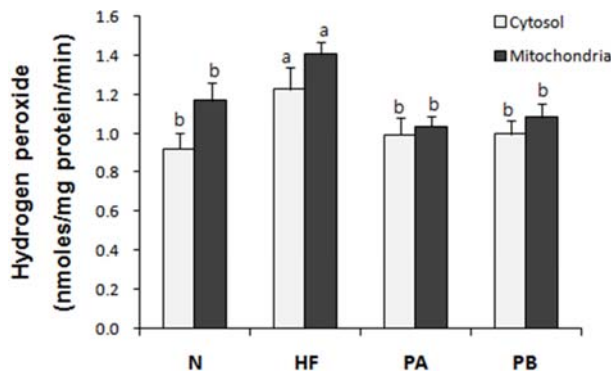
**Table 3.** Effects of *Salvia Plebia* R. Br. on hepatic superoxide radical contents in rats fed high fat and high cholesterol diets

| Groups <sup>1)</sup> | Superoxide radical (nmoles/mg protein/min) |                           |
|----------------------|--|---------------------------|
|                      | Mitochondria                               | Microsome                 |
| N                    | 12.37 ± 2.94 <sup>2)b</sup>                | 13.51 ± 0.56 <sup>b</sup> |
| HF                   | 19.13 ± 1.90 <sup>a</sup>                  | 32.13 ± 1.96 <sup>a</sup> |
| PA                   | 6.208 ± 1.16 <sup>c</sup>                  | 11.97 ± 0.48 <sup>b</sup> |
| PB                   | 7.766 ± 1.46 <sup>c</sup>                  | 8.368 ± 1.68 <sup>c</sup> |

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>All values are the means ± SE (n = 10).

<sup>a-c</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.



**Fig. 1.** Effects of *Salvia Plebia* R. Br. on hepatic hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) contents in rats fed high fat and high cholesterol diets. Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means  $\pm$  SE (n = 10). <sup>a,b</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

은 열풍건조 시킨 곶보배추가 25  $\mu$ g/mL 이상의 농도에서 80% 이상의 DPPH radical 소거능을 보였다고 보고하였다. 이러한 보고와 더불어 본 연구에서의 결과로부터 곶보배추는 추출물 및 분말 형태에서 모두 높은 활성을 가지는 것을 관찰하였으며, 여러 유리라디칼 소거능에 탁월하게 작용할 수 있음을 알 수 있었다.

#### 간조직의 hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) 함량

산화스트레스를 과도하게 받은 상태나 생물학적으로는 SOD로 촉매되는 반응에서 superoxide radical로부터 생성되어 생체 내 단백질이나 DNA 등을 손상시킨다고 알려져 있는<sup>31)</sup> radical인  $H_2O_2$ 의 함량을 간조직의 cytosol 및 mitochondria에서 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. Cytosol 및 mitochondria에서는 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되어졌으나, 곶보배추과우더를 5%, 10%로 공급한 PA, PB군 모두에서 고지방·고콜레스테롤식으로 증가된  $H_2O_2$ 의 함량을 유의적으로 감소시켜 모두 정상군 수준이 되었다. Rhee 등<sup>26)</sup>의 연구에서 간조직의 mitochondria에서 관찰한 결과 무청 파우더의 공급은 고콜레스테롤식으로 감소된  $H_2O_2$ 의 함량을 증가시켜 10%의 농도로 공급한 군은 정상군 수준으로 감소시켰는데, 곶보배추 파우더를 10% 공급한 군과 일치하는 결과를 나타내었다. Hong 등<sup>32)</sup>의 연구에서 쑥의 유기용매 추출물에 폴리페놀 및 플라보노이드가 풍부하게 함유되어 있음을 관찰하였고, 이러한 분획물들은 hydrogen peroxide 소거측정 결과 높은 활성을 나타내었다. 곶보배추의 주요 성분으로는 saponin, luteolin, caffeic acid, rosmarinic acid 뿐만 아니라 특히 폴리페놀 및 플라보노이드가 풍부한 데<sup>8)</sup>, Jeong 등<sup>33)</sup>의 연구에서 곶보배추를 동결건조한 물 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량은 각각  $71.8 \pm 4.74$  mg GAE/g 및  $38.7 \pm 2.95$  mg QUE/g이었고, Jeong 등<sup>25)</sup>의 또 다른 연구에서는 곶보

**Table 4.** Effects of *Salvia Plebia* R. Br. on serum glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) and glutamate pyruvate transaminase (GPT) activities in rats fed high fat and high cholesterol diets

| Groups <sup>1)</sup> | GOT                    |  | GPT                   |  |
|----------------------|------------------------|--|-----------------------|--|
|                      | (Karmen/mL)            |  |                       |  |
| N                    | $49.64 \pm 2.29^{2)c}$ |  | $18.84 \pm 2.77^b$    |  |
| HF                   | $65.38 \pm 2.58^a$     |  | $26.14 \pm 2.10^a$    |  |
| PA                   | $61.24 \pm 2.06^{ab}$  |  | $22.05 \pm 1.95^{ab}$ |  |
| PB                   | $59.09 \pm 2.13^b$     |  | $20.32 \pm 2.59^b$    |  |

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>All values are the means  $\pm$  SE (n = 10).

<sup>a-c</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

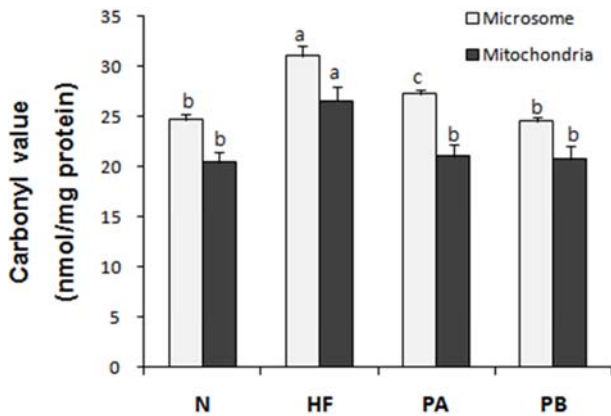
배추를 열풍건조 시킨 결과 각각 94.64 mg/g 및 29.70 mg/g으로 측정되어졌다. Lim 등<sup>15)</sup>의 연구에서 곶보배추의 메탄올 추출물에서는 총 폴리페놀이 202.4 mg GAE/g, Choi 등<sup>7)</sup>의 연구에서 곶보배추의 에탄올추출물에서는 12.4~75.0 mg/g의 함량을 나타내었다. 상기 보고들과 같이 곶보배추 속에는 항산화능에 효과적이고 활성산소 제거에 탁월하게 작용하는 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 것을 미루어 이러한 활성성분들은 간조직내  $H_2O_2$  소거활성에도 효과적으로 관여한 것으로 사료되어진다.

#### 혈청 중의 GOT 및 GPT 활성

GOT 및 GPT는 간이 손상을 입게 되면 정상적인 세포의 괴사로 인해 세포 외로 유출되어 혈중 농도가 증가되어지는 데, 이는 간 손상 지표로 이용되어지는 대표적인 효소이다. 간의 괴사를 반영하는 GOT와 간조직의 비대화 및 간의 상태를 반영하는 GPT의 활성을 측정한 결과는 Table 4와 같다. GOT 및 GPT 활성은 정상군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되어졌으며, 곶보배추의 공급으로 감소하는 경향을 나타내었고, 특히 10%로 공급한 군에서는 유의적인 차이를 나타내었다. Kim 등<sup>34)</sup>의 연구에 의하면 고지방·고콜레스테롤 식이는 간손상을 증가시켰는데, 5%의 울금 파우더의 공급은 GOT를 유의적으로 감소시키는 경향을 나타내었으며, GPT 활성 또한 낮추어 주었다. 이러한 결과는 본 연구에서 사용된 곶보배추의 공급의 결과와 유사하였으며, 5% 및 10% 농도의 곶보배추 공급은 간기능 손상에도 영향을 주지 않음을 보여주었다. 따라서 곶보배추는 고지방·고콜레스테롤 식이로 손상된 간조직에 효과적으로 작용할 수 있을 것이라 사료되어진다.

#### 간조직중의 carbonyl value

단백질은 생체막에 존재하여 활성산소에 의한 공격을 쉽게 받는다. 이러한 생체막의 세포에 산화를 일으키는 산화단백질의 대표적 생성지표로 알려져 있는 carbonyl value

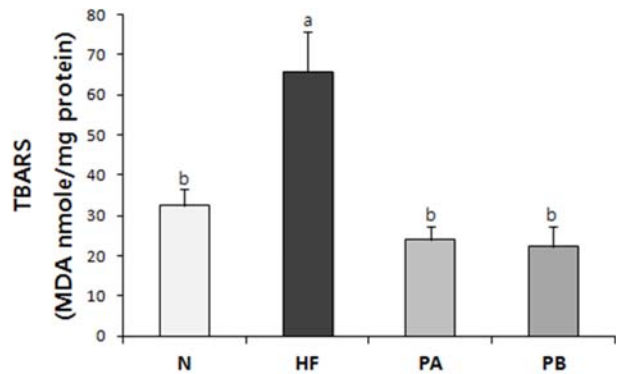


**Fig. 2.** Effects of *Salvia Plebeia* R. Br. on hepatic carbonyl value in rats fed high fat and high cholesterol diets. Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means  $\pm$  SE (n = 10). <sup>a-c</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

함량을 측정 한 결과는 Fig. 2와 같다. Microsome에서의 산화단백질 함량은 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되어졌으나 곰보배추 파우더의 공급으로 유의적으로 감소되어졌으며, 5%에 비해 10%의 공급에서 유의적으로 감소되어져 군간의 농도의존적인 차이도 나타내었다. 간조직의 mitochondria에서 산화단백질의 함량 또한 N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되어졌으며, 5%, 10%의 곰보배추 파우더 공급은 정상군 수준까지 유의적으로 산화단백질의 함량을 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. Song 등<sup>35</sup>의 연구에서 곰보배추와 같이 약용으로 사용되어지고 있는 황칠잎의 열수추출물의 공급은 고지방·고콜레스테롤 식이로 간조직 내 증가된 산화단백질의 양을 유의적으로 감소시켰으며, 특히 10% 황칠잎 추출물 공급은 정상군 수준까지 감소시켰다. Kim 등<sup>36</sup>의 연구에서는 고콜레스테롤 식이로 간 조직 내 단백질산화가 증가되어졌으나 함추추출물은 약 30% 까지 간 조직의 mitochondria에서 carbonyl value를 감소시켜 정상군 수준이 되었다. 이러한 결과로 미루어 곰보배추 내에 존재하는 여러 생리활성 성분들이 고지방·고콜레스테롤 식이로 손상된 간 조직의 carbonyl 수치를 정상군 수준으로 개선시킨 것으로 미루어 곰보배추에는 생체 내 단백질산화 방어능에 탁월하게 작용할 수 있음이 사료되어진다.

**간조직중의 과산화지질(TBARS) 함량**

지질과산화 반응은 독성물질 및 약물 등의 간손상으로 일어나며 생체 내 세포조직의 과도한 산화스트레스로 인한 활성산소 생성의 증가로도 일어난다. 이러한 반응은 세포막의 불포화 지방산과 연쇄반응을 통해 malondialdehyde의 농도를 증가시켜 생체의 세포에 산화적 손상을 일으켜 여러 질환을 유발시키는 과산화지질 함량을 증가시키게



**Fig. 3.** Effects of *Salvia Plebeia* R. Br. on thiobarbituric acid reaction substance (TBARS) values in rats fed high fat and high cholesterol diets. Experimental conditions are same as Table 1. All values are the means  $\pm$  SE (n = 10). <sup>a,b</sup>Those with different superscript letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

되는데, 이를 간조직에서 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. N군에 비해 HF군에서 유의적으로 증가되어졌으나, 곰보배추 파우더를 5%, 10% 공급한 결과 정상군 수준으로 까지 유의적으로 감소되어졌다. Won의 연구<sup>29</sup>에 의하면 고지방·고콜레스테롤로 인해 정상군 보다 유의적으로 간조직 내 지질과산화 함량이 증가되어졌으며, 곰보배추 열수추출물을 각각 50, 200, 500 mg/kg의 농도로 공급한 결과 고지방·고콜레스테롤 공급군에 비해 유의적으로 감소되어졌으나 농도 별 유의한 차이는 나타내지 않았다. 이러한 결과는 본 연구의 결과와 일치하였다. Son 등<sup>37</sup>의 연구에서 또한 고지방·고콜레스테롤군은 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으나 갯기릅나물 분말을 5%, 10%로 공급한 모든 군에서 유의하게 감소하였다. Choi 등<sup>38</sup>의 연구에서는 산채나물(참나물, 다래순, 미역취, 방풍나물, 삼나물)을 동결 건조하여 분쇄하여 3%로 공급한 결과 고지방·고당질 식이에 의해 간 조직의 과산화지질 함량이 증가하였으나, 유의적으로 정상군 수준으로까지 감소시켰다. 지질과산화 반응은 다가불포화지방산의 활성산소로 인해 생체막의 손상과 함께 산화적 분해를 일으키는 것으로 생체막의 기능저하, 세포의 노화 및 여러 질병을 초래할 수 있다<sup>39</sup>. 앞서 살펴본 여러 생리활성 성분들을 포함하는 약용식물들의 공급은 식이로 인해 손상된 간조직의 지질과산화 반응을 억제시키는 것을 알 수 있었다, 이러한 결과들과 더불어 특히 산화방지에 효과적인 다양한 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높은 곰보배추는 간조직의 지질과산화반응 억제에 기여하며 생체 내 세포노화 방어에 효과적으로 작용할 수 있다고 사료되어진다.

**Acknowledgement**

본 논문은 2018학년도 한국국제대학교 교내연구비의 지

원에 의하여 이루어진 것임.

### 국문요약

본 연구에서는 고지방·고콜레스테롤 식이 흰쥐에서 곰보배추 파우더가 간조직의 항산화 효소활성 및 산화적 손상에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험군을 4군으로 나누어 정상 식이군, 고지방·고콜레스테롤 식이군, 고지방·고콜레스테롤 식이에 곰보배추 파우더를 5% 및 10% 첨가한 군으로 각각 나누었다. 간 조직 중의 항산화 효소계인 GSH-px, catalase 및 SOD 활성은 정상군에 비해 HF군에서는 감소되는 경향을 나타내었으나 HF군에 비해 곰보배추 파우더 공급군에서 유의적으로 증가되었다. Superoxide radical 함량을 mitochondria 및 microsome에서 측정된 결과 정상군에 비해 HF군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 곰보배추 공급으로 유의하게 감소되었다. 특히 microsome에서는 군간의 유의한 차이도 나타내었다. 간조직의 cytosol 및 mitochondria에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 함량에서는 곰보배추 공급군 모두에서 유의적인 감소로 정상군 수준을 나타내었다. 혈청에서 간수치 GOT 및 GPT를 측정된 결과 10%의 곰보배추의 공급으로 HF군에 비해 유의적으로 감소되었다. 간조직의 microsome 및 mitochondria에서의 산화단백질 함량 또한 곰보배추 파우더의 공급으로 유의적으로 감소하였다. 과산화지질의 함량을 간조직에서 관찰한 결과 고지방·고콜레스테롤 식이로 인해 증가된 과산화지질이 곰보배추 파우더를 공급한 군에서 유의한 감소를 나타내었다. 곰보배추의 공급으로 고지방·고콜레스테롤 식이로 손상된 간조직의 항산화계는 곰보배추 내 함유되어진 여러 생리활성 물질들이 항산화효소의 활성을 증가시켜 체내에서 생성된 free radical에 의한 산화를 억제시켰으리라 사료되어진다. 이로 미루어 곰보배추는 체내 조직의 산화를 억제하는 항산화작용에 효과적으로 기여함을 알 수 있었다.

### References

- Byun, J. H.: The goals and strategy for healthpromotion. Korean Institute for Health and Social Affairs, Seoul, pp. 225-229 (1995).
- Mantha, S. V., Kalra, J., Prasad, K.: Effects of probucol on hypercholesterolemia-induced changes in antioxidant enzymes. *Life Sci.*, **58**, 503-509 (1996).
- Yokozawa, T., Nakagawa, T., Kitani K.: Antioxidative activity of green tea polyphenol in cholesterol-fed rats. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 3549-3552 (2002).
- Kim, S. H., Kim, S. J., Kim, K. J., Lee, A.R., Roh, S. S., Lee, Y. C.: Antioxidant and anti-Obesity effect of SM17 in high-fat diet induced C57BL/6 Mice. *Korea J. Herbol.*, **32**, 47-55 (2017).
- Ji, L. L.: Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant system. *Gerontology.*, **37**, 317-325 (1995).
- Kim, D. S., Kim, C. H.: Effect of sea tangle, *Laminaria J aponicus*, extract on activities of glucokinase and hexokinase in alloxan-induced diabetic mellitus mice. *Korean J. Life Sci.*, **11**, 467-482 (2001).
- Choi, B. K., Lee, S. H., Kim, N. S., Cho, S. Y., Jang, H. H., Kim, J. B., Lee, Y. M., Yoon, S. G., Lee, S. H.: Anti-oxidative and anti-allergic effects of *Salvia plebeia* R. ethanol extracts. *Kor. J. Pharmacogn.*, **45**, 332-337 (2014).
- Shirsat, R. P., Suradkarand, S. S., Koche, D. K.: Phytochemical composition and pharmacological aspects of *Salvia plebeia* R. Br: A mini review. *Indian J. Applied Research.*, **5**, 362-364 (2015).
- Park, H., Yu, Y. J., Choi, E. Y.: Effects of fluorescent light and light-emitting diodes on leaf morphology, Growth and Anti-oxidant Capacity of *Salvia plebeian*. *Protected Hort. Plant Fac.*, **26**, 208-214 (2017).
- Song, H. W., Ji, K. Y., Kim, B. K., Yang, W. K., Han, C. K., Shin, H. J., Park, Y. C., Hwang, J. S., Kang, H. S., Kim, S. H.: Respiratory protective effect of *Salvia plebeia* R. Br. extracts against ambient particulate matter-induced airway inflammation. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **25**, 269-281 (2017).
- Choi, S. I., Kwak, H. Y., Kim, J. Y., Choi, J. G., Lee, J. H.: Antiadipogenic effects of *Salvia plebeia* R. Br. extracts by extraction conditions in 3T3-L1 preadipocytes. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **23**, 245 -252 (2015).
- Shin, H. J., Gwak, H. M., Jang, M. Park, S. H. Min, H. J. Lee, J. M., Lee, M. Y., Kim, J. H., Kim, S. W., Han, C. K., Kim, S. H.: Anti-inflammatory activity of three kinds of *Salvia* and its active compounds. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **24**, 401-407 (2016).
- Kim, S. H., Kwon, C. S., Lee, J. S., Son, K. H., Lim, J. K., Kim, J. S.: Inhibition of carbohydrate-digesting enzyme and amelioration of glucose tolerance by Korean medicinal herbs. *J. Food Sci. Nutr.*, **7**, 62-66 (2002).
- Shin, M. K., Kim, S. K., Lee, S. K., Yang, E. Y., Lee, H. O., Baek, S. H.: Cytotoxicity and antimicrobial effect of the extract of *Salvia plebeia*. *Korean J. Pharmacogn.*, **32**, 55-60 (2001).
- Lim, J. A., Yun, B. W., Baek, S. H.: Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanal extract from *Salvia plebeia* R. Br *Korean J. Med. Crop Sci.*, **15**, 183-188 (2007).
- Marklund, S., Marklund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, **47**, 469-474 (1974).
- Lawrence, R. A., Burk, R. F.: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **71**, 952-958 (1976).
- Abel, H., Wyss, S. R., Scherz, B., Skvaril, F.: Heterogeneity of erythrocyte catalase II. isolation and characterization of normal and variant erythrocyte catalase and their subunits. *Eur. J. Biochem.*, **48**, 137-145 (1974).
- Gay, C. and Gebicki, J. M.: A critical evaluation of the effect

- tof sorbitol on the ferric-xylenol orange hydroperoxide assay. *Anal. Biochem.*, **284**, 217-220 (2000).
20. Azzi, A., Montecucco, C., Richter, C.: The use of acetylated ferricytochrome c for the detection of superoxide radicals produced in biological membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **65**, 597-603 (1975).
  21. Levin, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B. W., Shaltiel, S., Stadtman, E. R.: Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.*, **186**, 464-478 (1990).
  22. Satho, K.: Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new metric method. *Clin. Chem. Acta.*, **90**, 37-43 (1978).
  23. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
  24. Sreel, R. G. D., Torrie, J. H.: Principles and procedures of statistics. McGraw Hill, New York, NY, USA (1990).
  25. Jeong, J. S., Kim, Y. J., Choi, B. R., Go, G. B., Son, B. G., Gang, S. W., Moon, S. M.: Antioxidant and physicochemical changes in *Salvia plebeia* R. Br. after hot-air drying and blanching. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**.
  26. Rhee, S. J., Ahn, J. M. Ku, K. H. Choi, J. H.: Effects of radish leaves powder on hepatic antioxidative system in rats fed high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **34**, 1157-1163 (2005).
  27. Song, W. Y., Choi, J. H.: Effects of *Duchesnea chrysantha* on regulation of antioxidative defense system in rats fed a high-fat-high-cholesterol Diet. *J. Life Sci.*, **24**, 83-89 (2018).
  28. Park, S. N.: Skin aging and antioxidants. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea.*, **23**, 75-132 (1997).
  29. Won, H. R.: Effect of *Salvia plebeian* water extract on antioxidant activity and lipid composition of rats fed a high fat-high cholesterol diet. *Korean J. Community Living Sci.*, **27**, 233-243 (2016).
  30. Park, Y. S.: Antioxidant effects and improvement of lipid metabolism of *Acanthopanaxcortex* water extract in rats fed high fat diet. *J. East Asian Soc. Dietary Life.*, **20**, 37-45 (2010).
  31. Kim, H. J., Hwang Bo, M. H., Lee, J. W., Im, H. G., Lee, I. S.: Antioxidant effects of ginseng powder on liver of benzo ( $\alpha$ )pyrene-treated mice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **39**, 217-221 (2007).
  32. Hong, J. H., Jeon, J. L., Lee, J. H., Lee, I. S.: Antioxidative properties of *Artemisia princeps* Pamp. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**, 657-662 (2007).
  33. Jeong, J. S., Kim, Y. J., Ahn, E. K., Shin, J. Y., Go, G. B., Son, B. G.: Antioxidative activities and qualitative characteristics of substitute tea using *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J. Food Cook. Sci.*, **31**, 041-052 (2015).
  34. Kim, M. S., Chun, S. S., Choi, J. H. Effects of turmeric (*Curcuma longa* L.) on antioxidative systems and oxidative damage in rats fed a high fat and cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **42**, 570-576 (2013).
  35. Song, W. Y., Jo, C. S., Jeon, S. S., Kim, S. Y., Choi, J. H.: Effects of extracts of *Dendropanaxmorbifera* on lipid peroxidation and lipid composition. *J. Agric. Life Sci.*, **49**, 235-245 (2015).
  36. Kim, K. R., Choi, J. H., Lee, S. K., Woo, M. H., Choi, S. W.: Effect of enzymatic hydrolysate of hamcho (*Salicomiaherbacea*) on antioxidative defense system in rats fed high cholesterol diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **35**, 1356-1362 (2006).
  37. Son, H. K., Kang, S. T., Lee, J. J.: Effects of *Peucedanum japonicum* Thunb. on lipid metabolism and antioxidative activities in rats fed a high-fat/high-cholesterol diet. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**, 641-649 (2014).
  38. Choi, H. N., Kang, S. J., Choe, E. O., Chung, L. N., Kim, L. I.: Antioxidant effects of sanchae-namul in mice fed high-fat and high-sucrose diet. *Korean J. Food Cook.Sci.*, **30**, 369-377 (2014).
  39. Joo, H. Y., Lim, K. T.: Protective effect of glycol protein isolated from *Cudratricuspidata* on liver in CCl4-treated A/J mice. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **41**, 93-99 (2009).