

한국전통차 재료의 열수추출물이 납투여 흰쥐의 간조직 중 유해 활성산소 생성과 제거효소 활성화에 미치는 영향*

김덕진¹⁾ · 조수열²⁾ · 신경희²⁾ · 이미경³⁾ · 김명주^{4)§}

대구대학교 식품·생명·화학 공학부,¹⁾ 영남대학교 식품영양학과,²⁾
경북대학교 식품생물산업연구소,³⁾ 대구산업정보대학 식품영양과⁴⁾

Effect of Korean Traditional Tea Materials Water Extract on Hepatic Oxygen Free Radical Generating and Scavenging Enzyme Activities in Lead Administered Rats*

Kim, Duk-Jin¹⁾ · Cho, Soo-Yeul²⁾ · Shin, Kyong Hee²⁾
Lee, Mi-Kyung³⁾ · Kim, Myung-Joo^{4)§}

Division of Food, Biological and Chemical Engineering,¹⁾ Daegu University, Gyeongsan 712-714, Korea
Department of Food and Nutrition,²⁾ Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea
Food and Bio-Industry Research Institute,³⁾ Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
Department of Food Science and Nutrition,⁴⁾ Daegu Polytechnic College, Daegu 706-022, Korea

ABSTRACT

This study was designed to test the effect of Korean traditional tea materials on oxygen-free radical metabolism in lead (Pb)-administered rats. Male rats were divided into normal, Pb-control (Pb-Con) and Pb-water extract of green tea (*Camellia sinensis*; GT), persimmon leaf (*Diospyros kaki*; PL), safflower seed (*Carthamus tinctorius*; SS), Du-Zhong (*Eucommia ulmoides*; EU) groups, respectively. Pb intoxication was induced by administration of lead acetate (25 mg/kg. B.W., oral) weekly. The extract was administered based on 1.26 g of raw material/kg B.W./day for 4 weeks. When the GT, PL, SS and EU were supplemented to the Pb-administered rats, hepatic lipid peroxide levels were significantly lower compared to the Pb-Con group. Hepatic cytochrom P-450 content and aminopyrine N-demethylase activity was lower in the Pb-Con group than in the normal group, whereas xanthine oxidase activity was significantly elevated in Pb-administered rats. The water extract of GT, PL, SS and EU supplementation attenuated changes in enzyme activities generating reactive oxygen species in the liver. Hepatic superoxide dismutase, catalase and glucose 6-phosphate dehydrogenase activities were significantly higher in the Pb-Con group than in the normal group, while monoamine oxidase activity also tended to increase in the Pb-administered rats. However, glutathione peroxidase and glutathione S-transferase activities, and glutathione content significantly decreased through Pb intoxication. The supplementation of GT, PL, SS and EU induced alleviation changes of hepatic antioxidant enzyme activity. (*Korean J Nutrition* 36(2) : 117~124, 2003)

KEY WORDS : tea materials, lead, oxygen free radical metabolism.

서론

산화적 손상을 일으키는 유리기는 쌍을 이루지 않은 전자가 하나 이상 존재하는 물질로 에너지면에서 매우 불안정하고 반응성이 강하여 주변에 존재하는 분자로부터 전자

를 얻어 전자쌍을 이루어 안정성을 얻으려고 한다. 그러나 유리기와 반응물질이 다시 불안정한 유리기가 되어 연쇄적인 전자전달 반응이 일어나게 된다. 생체는 내인성 또는 외인성 요인으로 인하여 유리기가 형성되고 조직의 과산화적 손상을 일으킴으로써 노화와 각종 퇴행성 질환 등이 유발될 수 있다.¹⁾ 환경오염물질인 수은, 카드뮴, 철 및 구리 등이 유리기를 생성하여 독성을 일으킨다고 보고^{2,3)} 되면서 유리기를 제거할 수 있는 천연물 중의 항산화 성분개발에 대한 연구가 진전되고 있다.⁴⁾

납은 자연계에서 대부분 무기형태로 대기, 물, 토양에 존

접수일 : 2003년 1월 3일

채택일 : 2003년 2월 10일

*This research was supported by grant from Daegu University, 2002.

§To whom correspondence should be addressed.

재하며 일부 식품이나 음용수에도 미량 존재한다. 이를 섭취하는 사람은 일정량의 납을 체내에 보유하게 되며 성장하면서 환경적 폭로에 의해 납이 체내에 축적되는 것으로 알려져 있다.⁵⁾ 우리 나라에서도 곡류, 야채, 과일 등의 작물에서 중금속이 검출되었으며 검출량은 증가 추세에 있다.⁶⁾ 특히 미량일지라도 장기간에 걸쳐 물이나 토양속에 축적되면 어패류나 농작물에 축적된 후 식품 등을 통해 체내로 흡수·축적되며,⁷⁾ 산모의 경우 태반을 통하여 태아에게 영향을 미칠뿐 아니라⁸⁾ 모유를 통해서 배출됨으로⁹⁾ 공중보건상 심각한 문제를 야기하게 된다.

체내로 흡수되는 환경오염물질이나 약물과 같은 이물질은 간조직 중에서 phase I 반응 또는 phase II 반응에 의하거나 phase I 반응과 phase II 반응 모두를 통해 대사되어 체외로 배설되어진다.¹⁰⁾ Phase I 반응의 산화과정은 간의 소포체에 다량 존재하는 일산화효소 (monooxygenase) 계에 의해 이루어지는데, phase I 반응으로 생성된 중간생성물은 그 독성이 조직에 심한 손상을 입힐 수 있다. 그러나 연이은 phase II 반응의 활성화로 조직이 독성의 영향을 받지 않고 반응 중간생성물을 배설시킬 수 있어 생체는 항상성이 유지된다.

최근 동물 체내의 납 축적과 중독증상을 완화할 수 있는 전통음료에 대한 관심이 높아져 그 효능을 구체적으로 밝히려는 연구가 수행되고 있다. 특히, 한국전통차로 애용되는 천연물 중 녹차의 탄닌 성분은 금속이온과 착염을 형성하거나 화학흡착에 의해 수중으로부터 중금속류를 포집, 제거하는 능력이 있음을 Kimura 등¹¹⁾이 보고하였다. 감잎의 생리활성 기능을 나타내는 폴리페놀류는 지질과산화 억제작용,¹²⁾ 유지의 항산화작용,¹³⁾ 항암작용¹⁴⁾ 등이 보고되어 있으며 홍화는 간독성에 대한 보호작용이 보고¹⁵⁾되어 있다. 또한 두충수피는 강장, 강압 및 이뇨작용이 있으며, 현재 한약재뿐만 아니라 차와 같은 기능성 식품형태로써 소비가 증가되고 있다.¹⁶⁾

따라서 본 연구는 녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물을 납을 투여한 흰쥐에게 급여한 후 간조직 중의 유해활성산소 생성 및 제거효소 활성변화를 측정함으로써 한국전통차의 납해독 효과를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물 제조

실험에 사용한 녹차잎 (*Camellia sinensis*), 감잎 (*Diospyros kaki*), 홍화씨 (*Carthamus tinctorius*) 및 두충수피 (*Eucommia ulmoides*)는 대구 약령시장에서 구입하여 음건

한 후 작은 절편으로 만들어 균질기로 조직을 파쇄하였다. 파쇄한 시료 100 g씩을 둥근플라스크에 넣고 10배량의 증류수를 가하여 4시간동안 가열추출하고 그 여액을 회전증발농축기로 감압농축하여 동결건조한 후 사용하였다.

2. 실험동물의 사육

실험동물은 Wistar계의 이유한 수컷 흰쥐 60마리를 10일간 기본식으로 적응시킨 후 평균체중이 110 ± 10 g인 것을 난괴법에 의해 나누어 한마리씩 4주간 분리하여 사육하였다. 실험군은 정상군 (Normal), 납 단독투여군 (Pb-Con), 납투여와 녹차 (Pb-GT), 감잎 (Pb-PL), 홍화 (Pb-SS) 및 두충 (Pb-EU) 열수추출물을 각각 공급하는

Table 1. Experimental design

Treatment Groups ¹⁾	Lead ²⁾	Green Persimmon tea leaf	Safflower seed	Eucommia ulmoides cortex
Normal	-	-	-	-
Pb-Con	+	-	-	-
Pb-GT	+	+	-	-
Pb-PL	+	-	+	-
Pb-SS	+	-	-	+
Pb-EU	+	-	-	+

1) Normal: Normal group

Pb-Con: Lead acetate administered group, Pb-GT: Lead acetate + green tea water extract administered group, Pb-PL: Lead acetate + persimmon leaf water extract administered group, Pb-SS: Lead acetate + safflower seed water extract administered group, Pb-EU: Lead acetate + eucommia ulmoides cortex water extract administered group

2) Rats were orally administered lead acetate (25 mg/kg B.W.) weekly for 4wk.

Table 2. Composition of basal diet

Ingredients	Content (%)
Casein	20.0
Corn starch	15.0
Sucrose	50.0
Cellulose	5.0
Corn oil	5.0
AIN-mineral mixture ¹⁾	3.5
AIN-vitamin mixture ²⁾	1.0
DL-Methionine	0.3
Choline chloride	0.2

1) Mineral mixture (g/kg) according to AIN-76: calcium phosphate, dibasic; 500.0, sodium chloride; 74.0, potassium citrate, monohydrate; 220.0, potassium sulfate; 52.0, magnesium oxide; 24.0, ferric citrate; 6.0; manganese carbonate 3.5, zinc carbonate; 1.6, cupric carbonate; 0.3, potassium iodate; 0.01, chromium potassium sulfate; 0.55, sucrose 118.04.

2) Vitamin mixture (g/kg) according to AIN-76: thiamin-HCl; 0.6, riboflavin; 0.6, pyridoxine-HCl; 0.7, nicotinic acid; 3.0, Ca-pantothenate; 1.6, folic acid; 0.2, biotin; 0.02, retinyl acetate; 0.8, DL-tocopherol; 3.8, 7-dehydrocholesterol; 0.0025, menadione; 0.005, sucrose; 988.67

군 (Table 1)으로 나누었다.

녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물은 사람이 섭취하는 양을 고려하여 매일 일정한 시각에 체중 kg당 1.26 g 수준이 되도록 경구투여 하였다. 납은 탈이온 증류수에 녹여 LD₅₀에 근거하여 체중 kg당 25 mg을 매주 1회 일정 시각에 경구투여 하였으며 정상군은 0.9% 생리식염수를 투여하였다.

본 실험에 사용한 기본식이 (Table 2)는 AIN-76¹⁷⁾ 식이조성에 준하여 조제하였으며, 단백질 급원으로는 카제인 (Murray Co.)을 공급하였고, 탄수화물 급원으로는 옥수수 전분 (신동방), 지방 급원으로는 옥수수기름 (제일제당)을 사용하였다. 사육실 온도는 20 ± 2°C로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기 (08 : 00~20 : 00)로 조절하였다. 사육시 일어날 수 있는 무기질의 오염을 방지하기 위해 실험 시작전 필요한 모든 기구는 0.4% EDTA용액으로 세척하여 사용하였으며, 실험기간 동안 물은 탈이온 증류수를 사용하였다.

3. 효소원 조제

희생전 16시간 절식시킨 후 에테르로 가볍게 마취시켜 개복하고 복부대동맥으로 채혈한 후 빙냉의 0.25 M 수크로오스 용액으로 간을 관류하여 혈액을 제거한 다음 간조직을 적출하였다. 간조직 1g당 4배량의 0.25 M 수크로오스 용액을 가하여 균질기로 빙냉하에서 마쇄하여 얻은 균질액 (20 w/v%)을 600 × g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상층액을 얻었다. 이를 10,000 × g에서 20분간 원심분리 (Hitachi 20PR - 520)하여 미토콘드리아 분획을 취하였으며, 분리된 상층액을 105,000 × g에서 1시간 동안 초원심분리하여 시토플 분획과 마이크로소분획을 취하였다.

미토콘드리아 분획은 monoamine oxidase (MAO)와 catalase (CAT) 활성 측정에, 시토플 분획은 xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione reductase (GR), glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD) 및 glutathione S-transferase (GST) 활성 측정에, 마이크로소분획은 cytochrome P-450 (CYP) 함량과 aminopyrine N-demethylase (AD) 활성 측정에 사용하였다. 효소의 활성도는 소의 혈청 알부민을 표준품으로 하여 Lowry 등¹⁸⁾의 방법에 준해 측정된 단백질 mg당의 고유 활성도로 나타내었다.

4. 효소활성도 측정

간조직 중의 AD 활성은 Imai 등¹⁹⁾의 방법, XO 활성은

Stirpe와 Della²⁰⁾의 방법, SOD 활성도는 Marklund와 Marklund²¹⁾의 방법으로, CAT 활성도는 Aebi²²⁾의 방법, GSH-Px 활성도는 Paglia와 Valentine²³⁾의 방법, GST 활성도는 Habig 등²⁴⁾의 방법, GR 활성은 Pinto와 Bartley의 방법,²⁵⁾ 그리고 G6PD 활성은 Pitkanen의 방법²⁶⁾에 준하여 측정하였다.

5. Cytochrome P-450 함량 측정

간조직 중 CYP 함량은 Omura와 Sato^{27,28)}의 방법에 준하여 시험관내 마이크로소분획을 넣고 바늘을 통해 1분간 일산화탄소 가스를 발생시킨 후 환원제로 디티오니트 나트륨 30 mg을 넣고 혼합하여 1분간 일산화탄소 가스를 발생시켰다. 이상의 조작은 4°C 이하에서 행하였다.

기포 생성이 끝난 후 분광광도계를 사용하여 파장 400~500 nm에서 마이크로소분획과 CO 결합 마이크로소분획 상호간 스펙트럼 차이를 그려 CYP CO-complex에 의한 흡광량으로 하고, CYP CO-complex의 몰흡광계수 ($\epsilon = 91\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 함량을 계산하였다. CYP 함량은 마이크로소분획 단백질 1 mg당 nmol로 나타내었다.

6. 글루타티온 및 과산화지질 함량

글루타티온 함량은 Ellman²⁹⁾의 방법, 과산화지질 함량은 Ohkawa 등³⁰⁾의 방법에 의하여 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과는 SPSS package 프로그램을 이용하여 실험군 당 평균 ± 표준편차 표시하였고 각 군간의 평균치의 통계적 유의성은 p < 0.05 수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.³¹⁾

결과 및 고찰

1. 유해 활성산소 생성효소계 활성

한국전통차가 유해 활성산소 생성효소계에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 납을 투여한 흰쥐에 있어서 이물질 대사에 중추적인 역할을 하는 간조직 중 마이크로소분획의 CYP 함량, AD 및 XO의 활성을 Table 3에 나타내었다.

납 단독투여군은 정상군에 비하여 CYP 함량과 AD 활성이 유의적으로 (p < 0.05) 감소된 반면 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물 급여시 CYP 함량과 AD 활성은 납 단독투여군에 비해 증가되었다. 특히 CYP 함량은 녹차와 감잎 열수추출물군에서 정상 상태로 회복되었다. 본 실험결과는 납을 고농도로 처리한 흰쥐의 경우 CYP 함량이 정상군보다 약 45% 정도 감소된다는 보고³²⁾와 유사한 경향이였다.

Table 3. Effect of water extract of Korean traditional tea material on oxygen free radical generating enzyme activities in lead-administered rats*

Enzyme	Normal	Pb-Con	Pb-GT	Pb-PL	Pb-SS	Pb-EU
CYP ¹⁾	0.53 ± 0.02 ^a	0.39 ± 0.02 ^b	0.56 ± 0.01 ^a	0.51 ± 0.03 ^a	0.43 ± 0.01 ^b	0.41 ± 0.05 ^b
AD ²⁾	0.24 ± 0.02 ^a	0.17 ± 0.01 ^d	0.20 ± 0.01 ^c	0.21 ± 0.01 ^{bc}	0.24 ± 0.01 ^a	0.20 ± 0.01 ^c
XO ³⁾	1.70 ± 0.27 ^b	2.56 ± 0.27 ^a	1.81 ± 0.38 ^b	1.91 ± 0.13 ^b	2.10 ± 0.13 ^b	1.84 ± 0.15 ^b

*: Values are mean ± S.D. (n = 10), Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different between groups (p < 0.05).

1) CYP: cytochrome P-450; nmol/mg protein.

2) AD: aminopyrine N-demethylase; formaldehyde nmol/min/mg protein.

3) XO: xanthine oxidase; uric acid nmol/min/mg protein.

Table 4. Effect of water extract of Korean traditional tea material on oxygen free radical scavenging enzyme activities in lead-administered rats*

Enzyme	Normal	Pb-Con	Pb-GT	Pb-PL	Pb-SS	Pb-EU
SOD ¹⁾	5.55 ± 0.41 ^d	11.84 ± 1.14 ^a	11.18 ± 0.26 ^b	8.45 ± 0.34 ^c	9.45 ± 1.53 ^{bc}	8.55 ± 1.53 ^c
MAO ²⁾	2.44 ± 0.23 ^{ab}	2.57 ± 0.35 ^a	2.03 ± 0.31 ^b	2.05 ± 0.45 ^b	2.10 ± 0.19 ^{ab}	2.23 ± 0.33 ^{ab}
CAT ³⁾	3.51 ± 0.27 ^c	11.53 ± 2.32 ^a	7.61 ± 1.72 ^b	7.32 ± 1.34 ^b	8.33 ± 0.39 ^b	8.04 ± 0.38 ^b

*: Values are mean ± S.D. (n = 10), Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different between groups (p < 0.05).

1) SOD: superoxide dismutase; Unit/mg protein.

2) MAO: monoamine oxidase; nmol/min/mg protein.

3) CAT: catalase; reduced H₂O₂ nmol/min/mg protein.

또한 납 투여시 간조직의 AD 활성이 현저히 감소된 것은 Goldberg 등³³⁾의 보고와 같은 결과이었다.

CYP의 구조적 특성은 하나의 철원자를 가지고 있는 protoporphyrin IX의 prosthetic기로 되어 있어 촉매 활성자리 및 결합상태가 헴 생성과정의 중간체인 protoporphyrin IX와 구조적으로 유사하다는 것이다.³⁴⁾ Protoporphyrin IX는 납 투여에 의해 생성이 감소되는데,³⁵⁾ 그로 인해 CYP 함량이 상대적으로 감소된 것으로 사료된다. 이는 납으로 인한 간손상이 CYP 함량과 AD 활성과 같은 phase I의 구성성분의 감소로 인해 유도된다는 Roomi 등³⁶⁾의 보고로 뒷받침 된다. 본 실험 결과를 볼때 한국전통차 급여가 CYP 함량과 산화적 디메틸화를 증가시킴으로써 phase I의 방어계를 활성화하는 것으로 사료된다. 따라서 납독성을 완화하는데 요구되는 약물대사계 효소활성에 한국전통차 특히, 녹차와 감잎 열수추출물의 급여는 효과적 요인으로 작용할 것으로 생각된다.

한편 XO 활성은 납 단독투여군이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였으며 (p < 0.05) 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물을 급여시 XO 활성의 증가가 유의적으로 억제되는 것으로 나타났다. 이 결과는 납 투여시 XO의 활성이 증가됨으로써³⁷⁾ 간의 손상과 더불어 superoxide 유리기가 생성되는 것으로 생각된다. 또한 납은 생체내에서 XO의 활성을 증가시켜 superoxide anion, hydroxyl 및 hydrogen peroxide 유리기와 같은 산소유리기의 생성을 증가시킴으로써 지질의 과산화반응을 유도하여 독성이 나타나게 된

다.³⁸⁾ Aucamp 등³⁹⁾은 차류에 들어 있는 catechin과 flavonoid 등의 폴리페놀 화합물들이 XO 활성을 저해한다고 보고한 바 있는데 본 실험에서 실험식이 급여시 XO활성이 유의적으로 감소된 것은 납투여에 따른 산화적스트레스로 인한 간손상 예방에 한국전통차가 효과적일 것으로 사료된다.

2. 유해 활성산소 제거효소에 활성

납을 투여한 흰쥐에게 녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물을 4주간 급여하여 사육한 흰쥐의 SOD, MAO 및 CAT 활성을 Table 4에 나타내었다.

납 단독투여군은 정상군에 비하여 SOD 활성이 2배나 증가되었는데 Hermes-Lima 등⁴⁰⁾은 이와 같은 결과가 aminolevulinic acid의 과부하로부터 유도된 활성산소유리기 생성에 대한 방어반응과 관련된다고 보고하였다. 납 단독투여군에서 SOD 활성이 높은 것은 세포내 유리기가 생성되었음을 나타내며 또한 납의 산화적 손상으로 인한 조직의 보호반응을 반영하는 것으로 생각된다. 반면 실험식이 급여시 감잎, 두충, 홍화 및 녹차 열수추출물순으로 유의적인 활성 억제효과가 나타났으며 특히 감잎과 두충 열수추출물의 효과가 우수한 것으로 관찰되었다.

Benzylamine을 기질로 사용한 간조직의 MAO 활성은 납 단독투여군이 가장 높은 활성을 나타내었다. 녹차 또는 감잎 열수추출물을 급여시 납 단독투여군에 비하여 MAO의 활성이 유의하게 억제된 반면 홍화와 두충 열수추출물은 MAO 활성에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 비록 납

투여로 인해 MAO 활성이 정상군에 비해 유의적인 증가는 아니었으나, 납에 노출시 흰쥐의 MAO 활성이 증가되었다는 Carmignani 등⁴¹⁾의 보고와 유사하였다. 납을 단독투여한 군은 정상군에 비하여 CAT 활성이 약 3.3배로 증가 ($p < 0.05$) 되었으며 실험식이 급여군 모두 납투여로 인해 증가된 CAT 활성을 현저하게 억제하였다. 납투여로 인해 증가된 CAT의 활성 억제효과는 감잎 열수추출물군 37%, 녹차 열수추출물군 34%, 두충 열수추출물군 30%, 홍화 열수추출물군 28% 순으로 나타났다. 이와 같이 녹차를 비롯한 다엽에 다량 존재하는 폴리페놀계 화합물은 강한 항산화 작용을 가질뿐만 아니라 금속 이온과 착염을 형성함⁴²⁾으로써 중금속 해독에 관여할 것으로 사료된다.

3. 글루타티온 관련 효소 활성 및 글루타티온 함량

녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물이 납을 투여한 흰쥐의 GSH-Px, GR, G6PD, GST 활성과 글루타티온 함량에 미치는 영향은 Table 5에 나타내었다.

GSH-Px 활성은 정상군에 비하여 납 단독투여시 22%의 뚜렷한 감소 ($p < 0.05$)를 보였다. 납 단독투여로 억제된 GSH-Px 활성은 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물 급여로 회복됨이 관찰되었다. 이것은 납에 중독될 경우 GSH-Px 활성이 감소되었다는 Valenzuela 등⁴²⁾의 보고와 일치하는데 GSH-Px 효소의 구성성분인 selenocystein과 납의 상호작용에서 기인되는 것⁴³⁾으로 사료된다. 납을 투여로 감소된 GSH-Px 활성이 한국전통차인 실험식이 급여로 증가됨으로써 간조직의 지질과산화물을 억제한 것으로 생각된다. 나아가 superoxide anion, hydroxyl, peroxyyl 유리기와 같은 활성산소를 직접 제거하여 항산화효소의 활성을 증가시키고 활성산소 생성에 관여하는 XO의 활성을 억제함으로써 항산화 효과를 나타내는 것으로 알려져 있어⁴⁴⁾ 본 실험의 결과를 뒷받침해 주고 있다.

정상군에 비하여 납 단독투여군에 있어서 GR의 활성은

뚜렷한 변화가 관찰되지 않았고 녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물 급여에 의한 영향도 나타나지 않았다. 이는 한국전통차의 열수추출물이 GR에 의한 글루타티온 재생에 큰 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

간조직 중의 G6PD 활성은 정상군에 비하여 납 단독투여군에서 유의한 증가 ($p < 0.05$)를 나타내었다. 이 결과는 본 실험에서 GR의 활성변화가 관찰되지 않은 반면 CAT의 현저한 활성 증가를 관찰한 바 G6PD의 활성 증가가 글루타티온 함량 증가보다는 CAT 활성에 영향을 미친 것으로 사료된다. 납투여에 의해 증가된 G6PD 활성은 한국전통차의 급여로 인해 유의하게 회복되는 것으로 나타났다.

간조직 중의 GST 활성과 글루타티온 함량은 정상군에 비하여 납 단독투여군에서 유의적인 감소 ($p < 0.05$)를 나타내었으며 4주간 한국전통차의 열수추출물을 급여한 결과 납투여에 따른 GST의 활성 및 글루타티온 함량 억제 효과는 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물 급여시 유의하게 회복되는 것을 관찰할 수 있었다. 이것은 간조직 중의 GST 활성이 납을 투여한 7일 후부터 크게 감소하였다는 Daggett 등⁴⁵⁾의 보고와 납을 투여한 날부터 감소되었다는 Nakagawa⁴⁶⁾의 보고와 유사한 결과이다.

또한 납투여시 글루타티온의 함량 감소는 납이 간조직의 글루타티온 방출을 용이하게 함으로써 함량을 감소⁴⁷⁾시키기 때문으로 생각된다. 생체내 글루타티온의 고갈은 생존에 영향을 미치고 글루타티온 함량이 낮을 경우 세포손상 및 독성에 대해 민감해지는 것으로 알려져 있다.⁴⁸⁾ 이러한 글루타티온의 함량이 감소된 것은 납을 해독하는데 사용되었거나 GR의 활성저해에서 기인될 수 있다고 Sandhir 등⁴³⁾은 제시하였으나 본 실험에서는 납에 의한 GR의 활성변화는 관찰되지 않았다.

납에 의해 영향을 받는 다양한 생물학적 시스템에서 납에 노출되면 글루타티온의 고갈과 지질과산화물의 증가 때

Table 5. Effect of water extract of Korean traditional tea material son glutathione related enzyme activities and glutathione level in lead-administered rats*

Parameters	Normal	Pb-Con	Pb-GT	Pb-PL	Pb-SS	Pb-EU
GSH-Px ¹⁾	6.03 ± 0.66 ^a	4.63 ± 0.62 ^b	5.28 ± 0.90 ^{ab}	5.15 ± 0.69 ^{ab}	5.25 ± 0.67 ^{ab}	5.15 ± 0.12 ^{ab}
GR ²⁾	54.67 ± 2.51	58.58 ± 2.24	55.21 ± 2.48	54.26 ± 0.08	59.05 ± 3.67	57.08 ± 2.37
G6PD ³⁾	11.82 ± 1.58 ^c	20.34 ± 3.21 ^a	13.33 ± 1.45 ^b	11.06 ± 3.20 ^b	10.39 ± 1.06 ^c	16.44 ± 1.04 ^b
GST ⁴⁾	16.05 ± 0.42 ^a	14.72 ± 0.88 ^b	15.58 ± 0.41 ^b	16.89 ± 0.46 ^a	16.09 ± 0.60 ^a	16.16 ± 0.21 ^a
GSH ⁵⁾	4.75 ± 0.45 ^a	2.42 ± 0.33 ^b	3.80 ± 0.07 ^a	3.71 ± 0.45 ^a	4.04 ± 0.59 ^a	4.11 ± 1.16 ^a

*: Values are mean ± S.D. (n = 10). Means in the same row not sharing a common superscript are significantly different between groups ($p < 0.05$).

- 1) GSH-Px: glutathione peroxidase; nmol/min/mg protein.
- 2) GR: glutathione reductase; nmol/min/mg protein.
- 3) G6PD: glucose 6-phosphate dehydrogenase; nmol/min/mg protein.
- 4) GST: glutathione S-transferase; nmol/min/mg protein.
- 5) GSH: glutathione; nmol/g of tissue.

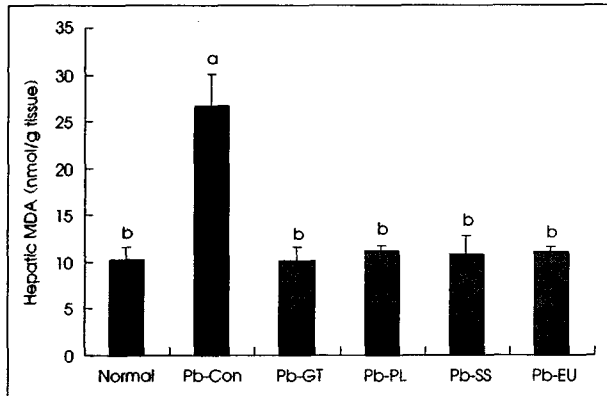


Fig. 1. Effect of water extract of Korean traditional tea material on hepatic lipid peroxide content in lead-administered rats. Values are mean \pm S.D. (n = 10). The means not sharing a common letter are significantly different between groups ($p < 0.05$).

문에⁴³⁾ 납은 산화적 손상을 증가시켜 세포독성을 나타내는 것으로 알려져 있는데⁴⁹⁾ 본 실험에서 납투여에 따른 글루타티온의 고갈을 억제하는데 한국전통차의 열수추출물 급여가 효과적인 것으로 나타났다.

4. 과산화지질 함량에 미치는 영향

납중독된 흰쥐에게 한국전통차 열수추출물을 급여하였을 때 간조직의 과산화지질 함량변화는 Fig. 1과 같다.

간조직 중의 과산화지질 함량은 정상군에 비하여 납 단독투여시 유의한 증가를 나타내었다 ($p < 0.05$). 최근 중금속 독성 중 논란이 되고 있는 수은, 카드뮴, 철, 구리 이온들이 독성을 나타내는 과정에서 세포막 구성성분 중 불포화지방산의 과산화반응을 유도하여 세포막을 손상시킴으로써 기능 장애로 인해 독성이 나타난다는 보고³⁾와 관련시켜 볼 때 납 역시 과산화반응에 개입하여 독성을 나타낼 것으로 사료된다. 한국전통차 열수추출물 급여군 모두 납 단독투여군에 비하여 과산화지질 함량은 유의적인 감소를 나타내었다. 따라서 녹차, 감잎, 홍화 및 두충의 열수추출물 급여로 납을 투여한 흰쥐의 간조직에서 과산화지질의 함량 증가가 억제되는 것으로 보아 한국전통차가 납중독을 완화시킬 가능성이 있을 것으로 생각된다.

요 약

한국전통차로 알려진 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물이 납투여된 흰쥐의 유해 활성산소 대사에 미치는 영향을 구명하기 위하여 체중 kg당 25 mg의 납을 매주 1회 경구투여 하였다. 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물은 매일 일정시간에 체중 kg당 1.26 g 수준이 되도록 4주간 경구

투여 하여 사육한 결과 간조직 중 과산화지질 함량은 납 단독투여군이 정상군에 비하여 유의적으로 증가되었으며 한국전통차 급여시 과산화지질 생성을 현저하게 억제하는 것으로 나타났다. 간조직 중의 CYP 함량과 AD 활성은 납투여시 유의적으로 감소되었으나 각각의 열수추출물 급여시 납투여로 억제된 활성이 회복됨으로써 한국전통차 급여가 CYP 함량과 산화적 디메틸화율을 증가시키는 것으로 관찰되었다. 또한 납투여로 증가된 간조직의 XO와 SOD의 활성은 녹차, 감잎, 홍화 및 두충 열수추출물 급여시 활성이 유의적으로 억제되었다. MAO 활성은 납 투여시 정상군에 비하여 유의적이지는 않으나 증가되었으며 녹차와 감잎 열수추출물 급여로 활성 증가가 현저하게 억제되었다. 간조직 중 CAT 활성은 납투여시 약 3.3배 증가되었는데 감잎군 37%, 녹차군 34%, 두충군 30%, 홍화군 28%, 순으로 억제되는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 GSH-Px와 GST 활성 및 글루타티온 함량은 정상군에 비하여 납 단독투여시 유의적인 감소를 보였으나 한국전통차 급여로 회복되었다. GR 활성은 실험군간에 변화가 관찰되지 않았으나 G6PD 활성은 납투여로 증가된 활성이 실험식이 급여시 유의적으로 감소되었다.

Literature cited

- 1) Basu AK, Loechler EL, Leadon SA, Essignann JM. Genetic effects of thymine glycol: site-specific mutagenesis and molecular modeling studies. *Pro Natl Acad Sci USA* 86: 7677-7681, 1989
- 2) Woods JS, Calas CA, Aicher LD, Robinson BH, Mailer C. Stimulation of porphyrinogen oxidation by mercuric ion. I. Evidence of free radical formation in the presence of thiol and hydrogen peroxide. *Mol Pharmacol* 38: 253-260, 1990
- 3) Fernandes AC, Filipe PM, Coelho G, Manso CF. The inhibition of lipid peroxidation by cinnarizine: possible implications to its therapeutic and side-effects. *Biochem Pharmacol* 41: 709-714, 1991
- 4) Tanizawa H, Toda S, Sazuka Y, Taniyama T, Hayashi T, Arichi S, Takino Y. Natural antioxidants. I. Antioxidative components of tea leaf (*Thea sinensis* L.). *Chem Pharm Bull* 32: 2011-2014, 1984.
- 5) Park JA, Choi JS, Lee JW, Lee SK. Lead levels in blood and urine of a normal male person in Korea. *Korean Ind Hyg Assoc J* 8: 224-230, 1998
- 6) Baik DW, Kwon WC, Won KP, Kim JH, Kim OH, Sho YS, Kim YJ, Park KS, Seong DK, Seo SC, Lee KJ. Study on the contents of trace elements in foods. *Kor J Food Hygiene* 3: 7-18, 1988
- 7) Miller J, Boswell FC. Cadmium, lead and zinc in growing rats fed corn leaf tissue grown on soil amended with sewage sludge or heavy metal salts. *Environ Health Perspect* 42: 197-202, 1981
- 8) Ernhart CB. A critical review of low level prenatal lead exposure

- in the human: Effects on the fetus and newborn. *Reprod Toxicol* 6: 9-19, 1992
- 9) Hallen IP, Oskarsson A. Dose dependent transfer of 203lead to milk and tissue uptake in suckling offspring studied in rat and mice. *Pharmacol Toxicol* 73: 174-179, 1993
 - 10) Croci T, Williams GM. Activities of several phase I and phase II xenobiotic biotransformation enzymes in cultured hepatocytes from male and female rats. *Biochem Pharmacol* 34: 3029-3035, 1985
 - 11) Kimura MH, Hamashita T, Komata J. Use of green tea as an adsorbent of several metal ions in water. *Bunseki Kagaku* 35: 400-405, 1986
 - 12) Dushkin MI, Zykov AA, Pivovarava EN. The effects of natural polyphenol compounds on the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Bull Eksp Bio Med* 116: 393-395, 1993
 - 13) Kimura Y, Okuda H, Okuda T, Hatano T, Agata I, Arichi S. Studies on the activities of tannins and related compounds: V. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Planta Med* 50: 473-477, 1984
 - 14) Fujiki H, Saganuma M, Okabe S, Komori A, Sueoka E, Sueoka N, Kozu T, Sakai Y. Japanese green tea as a cancer preventive in humans. *Nutr Rev* 54: S67-70, 1996
 - 15) Jung KH, Jeong CS. Protective effect of *Carthmus tinctorius* L. semen on hepatotoxicity by carbon tetrachloride in rats. *J Appl Pharmacol* 4: 428-436, 1996
 - 16) Hong ND, Rho YS, Kim JW, Won DH, Kim NJ, Cho BS. Studies on the general pharmacological activities of *Eucommia ulmoides* Oliver. *Kor J Pharmacogen* 19: 101-110, 1987
 - 17) Report of American Institute of nutrition. Ad Hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348, 1977
 - 18) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein assay with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951
 - 19) Imai T, Ito A, Sato R. Evidence of biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction. *J Biochem* 60(4): 417-428, 1966
 - 20) Stürpe F, Della CE. The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J Biol Chem* 244: 3855-3863, 1969
 - 21) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol & a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474, 1974
 - 22) Aebi H. Catalase in vitro. *Method Enzy* 10: 121-126, 1988
 - 23) Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169, 1967
 - 24) Habig WH, Pabist MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferase: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139, 1974
 - 25) Pinto RE, Bartley W. The effect of age and sex on glutathione peroxidase activities and on aerobic glutathione oxidation in rat liver homogenates. *Biochem J* 112: 109-115, 1969
 - 26) Pitkanen E, Pikanen O, Uotila L. Enzymatic determination of unbound D-mannose in serum. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 35(10): 761-766, 1997
 - 27) Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 239: 2370-2378, 1964
 - 28) Omura T, Sato, R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties. *J Biol Chem* 239: 2379-2385, 1964
 - 29) Ellman GL. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77, 1959
 - 30) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358, 1979
 - 31) Steel RGD, Torrie JH. 1960. Principles and procedures of statistics. McGraw Hill, New York.
 - 32) Wagstaff DJ. Effects of dietary lead acetate on hepatic detoxication enzyme activity. *Bull Environm Contam Toxicol* 23: 753-758, 1979
 - 33) Goldberg A, Meredith PA, Miller S, Moore MR, Thomson GG. Hepatic drug metabolism and haem biosynthesis in lead-poisoned rats. *Br J Pharmacol* 62(4): 529-536, 1978
 - 34) Gotoh O, Tagashira Y, Iizuka T, Fugii-Kuriyama Y. Structural characteristics of cytochrome P-450. Possible location of the heme-binding cysteine in determined amino acid sequences. *J Biochem (Tokyo)* 93: 807-817, 1983
 - 35) Gibson SL, Mackenzie JC, Goldberg A. The diagnosis of industrial lead poisoning. *Br J Ind Med* 25: 40-51, 1968
 - 36) Roomi MW, Columbano A, Ledda-Columbano GM, Sarma DS. Lead nitrate induces certain biochemical properties characteristic of hepatocyte nodules. *Carcinogenesis* 7(10): 1643-1646, 1986
 - 37) Ariza ME, Bijur GN, Williams MV. Lead and mercury mutagenesis: role H₂O₂, superoxide dismutase and xanthine oxidase. *Environ Mol Nutagen* 31: 352-361, 1998
 - 38) Huh K, Shin US, Lee SH, Ann WH. Effect of lead ion on the hepatic xanthine oxidase activity *in vitro*. *Yakhak Hoeji* 39: 521-526, 1995
 - 39) Aucamp J, Gaspar A, Hara Y, Apostolides Z. Inhibition of xanthine oxidase by catechins from tea (*Camellia sinensis*). *Anti-cancer Res* 17: 4381-4385, 1997
 - 40) Hermes-Lima M, Pereira B, Bechara EJ. Are free radicals involved in lead poisoning? *Xenobiotica* 21: 1085-1090, 1991
 - 41) Carmignani M, Volpe AR, Boscolo P, Quao N, Gioacchino MD, Grilli A, Felaco M. Catecholamine and nitric oxide systems as targets of chronic lead exposure in inducing selective functional impairment. *Life Science* 68: 401-415, 2000
 - 42) Valenzuela A, Lefaucinier JC, Bourre JM. Effect of lead acetate on cerebral glutathione peroxidase and catalase during chronic exposure in suckling rats. *Neurotoxicol* 10: 63-69, 1989
 - 43) Sandhir R, Julka D, Kiran DG. Lipoperoxidative damage on lead exposure in rat brain and its implications on membrane bound enzymes. *Pharmacol Toxicol* 74: 66-77, 1994
 - 44) Tubaro E, Lotti B, Cavallo G, Croce C, Borelli G. Liver xanthine oxidase increase in mice in three pathological models: a possible defence mechanism. *Biochem Pharmacol* 29: 1939-1943, 1980
 - 45) Daggett DA, Oberley TD, Nelson SA, Wright LS, Komguth SE, Siegel FL. Effects of lead on rat kidney and liver: GST expression and oxidative stress. *Toxicol* 128: 191-206, 1998

- 46) Nakagawa K. Decreased glutathione S-transferase activity in mice
lovers by acute treatment with lead, independent of alteration in
glutathione content. *Toxicol Lett* 56: 13-17, 1991
- 47) Conard ME, Barton JC. Factors affecting the absorption and
excretion of lead in the rats. *Gastroenterology* 74: 731-740, 1987
- 48) Kim JS, Kim MK. Metabolic changes in growing rats fed diets
with different level of lead and lipid. *Korean J Nutr* 22: 225-236,
1987
- 49) Sieg DJ, Billings RE. Lead cytokine-mediated oxidative DNA
damage in cultured mouse hepatocytes. *Toxicol Appl Pharm* 142:
106-115, 1997