

초임계 이산화탄소를 이용한 돌나물 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 지질대사, 지질과산화 및 항산화에 미치는 영향

김옥경

대진대학교 자연과학대학 식품영양학과
(2004년 5월 10일 접수 ; 2004년 8월 17일 채택)

The Effects of *Sedum sarmentosum* Bunge Extract using Super Critical Carbon Dioxide on Lipid Metabolism, Lipid Peroxidation and Antioxidation in Carbon Tetrachloride Induced Hepatotoxicity in Rats

Ok-Kyung Kim

*Department of Food Science and Nutrition, Dae Jin University,
Pochon-Si 487-711, Korea
email : okkim@daejin.ac.kr*

(Received May 10, 2004 ; Accepted August 17, 2004)

Abstract : Extraction of *Sedum sarmentosum* Bunge by super critical carbon dioxide was operated under 40-50°C and 200-250 atm, thus, yield of extraction was very low as 4 wt%. Rats were administrated with the extract orally once a day for successive 6 days, followed by treatment with carbon tetrachloride (CCl₄) on the sixth day. The activities of aminotransferase, alkaline phosphatase, γ -glutamyl transpeptidase, lactate dehydrogenase and contents of triglyceride, total cholesterol in the extract-pretreated rats were decreased compared to the CCl₄ controled rats, whereas content of HDL-cholesterol was increased. Especially content of hepatic malondialdehyde (MDA) and atherogenic index (AI) were decreased and HTR was increased in the extract-pretreated rats, and reduced peroxidative liver damage in the CCl₄-induced hepatotoxicity rats. In addition, activities of hepatic superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in the extract-pretreated rats were significantly decreased compared to the CCl₄ controled rats, but the content of glutathione was significantly increased. These results suggest that extract of *Sedum sarmentosum* Bunge has hepatoprotective effect in the CCl₄-intoxicated rats.

Keywords : *super critical carbon dioxide, Sedum sarmentosum Bunge extract, carbon tetrachloride, lipid metabolism, lipid peroxidation, antioxidation.*

1. 서론

2003년 통계청의 발표에 의하면 우리나라의 평균 수명이 76세로 국민소득의 증가와 함께 증가하고 있으나 스트레스, 영양섭취의 불균형, 식습관의 변화 또는 환경오염등으로 성인병이 증가하고 있다.

산소는 생존함에 있어 필수물질로 여러 대사 과정을 거쳐 free radical을 만들어 체내 유해 세균의 살균 작용이나 노화된 단백질의 제거등에 이용되지만 과량으로 만들어진 free radical이 소거되지 않으면 생체의 노화나 질병으로 이어진다[1-3].

약물과 독성 물질로 부터의 보호능력을 갖는 간장의 질병 또는 괴사를 일으키는 원인은 바이러스, 독성 약물 또는 기타 많은 인자가 있다. 특히 용제로 사용되고 있는 CCl_4 는 microsomal mixed function oxidase에 의해 생성된 trichloromethyl radical이 간막의 단백질기와 결합되어 막의 지질과산화 반응 촉진과 간의 기능을 파괴하여 장애를 유발시킨다[4,5]. 최근에는 식물이 함유하고 있는 phytochemical 물질을 이용하여 세포의 손상이나 파괴를 유발하는 활성산소(O_2^- , OH^-)의 생성을 억제하는 작용에 대한 연구가 많이 보고되고 있다[6-8].

돌나물(*Sedum sarmentosum* Bunge)은 들나물과에 속하는 다년생 초로써 전국 산야지에 분포하고 식용, 약용, 관상용으로 쓰이며 특히 이른 봄에 산채 식품으로 주로 이용되며 한방명은 불갑초(佛甲草), 생약명은 수분초(垂盆草)라 한다[9]. 민간에서는 잎과 뿌리를 달이거나 즙을 내어 마시면 해열, 해독, 지혈, 선열, 대하증, 인후두염, 만성간염, 사교창, 화상에도 쓰인다고 하였다[10]. 함유성분으로는 sedoheptulose, sucrose, fructose 등의 당질과 특히 비타민 C, 철분과 칼슘이 풍부히 들어있으며[11], 생리활성 연구로는 돌나물이 난소를 절제한 흰쥐의 혈중 지질 함량[12]과 결합조직 중의 collagen 함량 변화에 미치는 영향[13]이 보고되었다.

본 연구에서는 초임계 유체인 이산화탄소를 사용하여 돌나물을 추출하여 흰쥐에게 투여한 후 CCl_4 를 투여하여 간 독성에 대한 지질대사, 지질과산화 및 항산화에 미치는 영향을 검토하였다.

2. 이론적 고찰

초임계 유체(super critical fluid ; SCF)의 추출은 임계점보다 높은 압력과 온도영역에서 기상과 액상을 분리하는 기술이다[14].

Fig. 1은 초임계 유체추출에서 가장 널리 이용되고 있는 이산화탄소의 압력과 온도에 관한 그림으로 TP는 기체, 액체 그리고 고체가 만나는 삼중점이고, CP는 기체와 액체의 임계점($T_c=40^\circ C$, $P_c=73.7bar$)이다. 여기에서 임계점 이상의 영역을 초임계점(super critical point)이라고 하고, 이 임계점 부근에서는 물질의 물성변화가 크며, 밀도의 경우 물질의 용해력과도 관계가 있다.

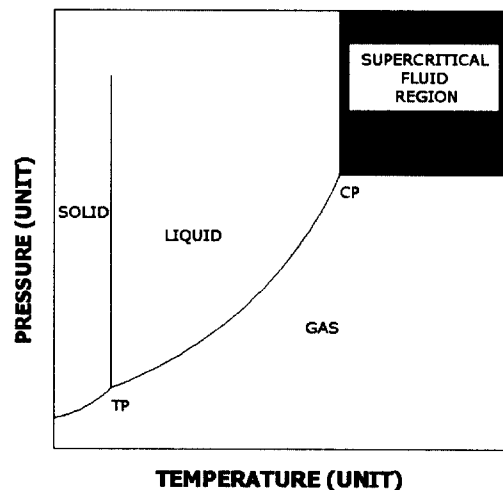


Fig. 1. Press-temperature diagram of carbon dioxide for super critical fluid.

Fig. 2는 밀도와 압력과의 관계를 온도의 변수로 나타낸 그림이다. 이 그림은 임계점 부근에서 압력과 온도 그리고 밀도의 변화가 크며, 초임계 유체에서 널리 이용되고 있는 영역은 $T_r=1\sim 1.2(40\sim 50^\circ C)$, $P_r=0.5\sim 4.0(200\sim 250atm)$, $\rho_r=0.5\sim 2.5(0.80\sim 1.20g/cm^3)$ 로 이 영역에서 초임계 유체로 시료를 기상과 액상으로 분리 시킬수 없는 특징을 가지고 있다.

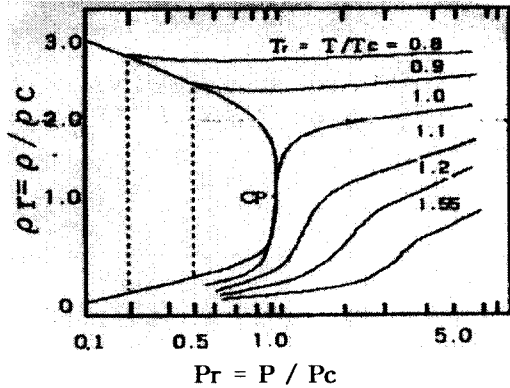


Fig. 2. Plot of Pr vs. ρ_r according to Tr as parameter.

Table 1은 각종 유체의 임계조건으로 여기서 초임계 유체로 이용되는 이산화탄소는 무독성, 안전성, 내부식성, 경제적인 관점에서 유리하지만 비극성 용매로 각종 물질을 추출하는데 한계가 있으며, 특히 물, 당류, 전분, 단백질 등의 추출은 사용이 불가능 한 단점이 있다.

3. 실험

3.1. 시료, 시약 및 기기

본 실험에 사용된 돌나물은 2003년 5월경 경기도 포천시의 들에서 채취하여 사용하였으며, 시약은 carbon tetrachloride (Janssen Co., Japan), olive oil (Yakuri Co., Japan) sodium azide, glutathione, glutathione reductase, NADPH, cumene hydroperoxide, 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB), 5,5-dithiobis(2-nitrobenzoic acid(DTNB), xanthine,

xanthine oxidase, cytochrome C, sodium deoxycholate, 1,1,3,3,-tetraethoxypropane, thiobarbituric acid, bovine serum albumin (Sigma Co., U.S.A.)을 사용하였으며, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyltransferase (γ -GT), cholesterol, HDL-cholesterol triglyceride (TG) kit (영동제약, Korea), lactate dehydrogenase dehydrogenase(LDH) kit (아산제약, Korea)를 사용하였고, 추출용 유기용매는 에탄올(특급시약, 독일산)을 사용하였고, 나머지 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

본 실험에 사용한 초임계 유체추출기(Com, PMSH-0500KAAA, Dong Yang Venture Co. Ltd.)는 Fig. 3과 같이 가압용 compressor, 구동용 gas booster, 3,000ml용 heating jacket

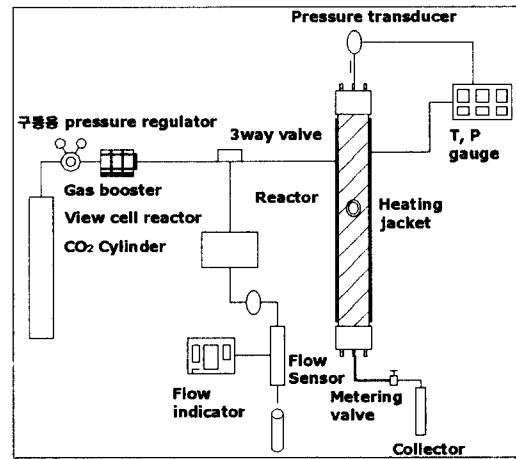


Fig. 3. Equipment of super critical fluid extractor.

Table 1. Critical Condition of Various Fluids

Fluid	MW	Pc(bar)	Tc(°K)	ρ_c (g/cm ³)
methanol	32.40	80.9	512.6	0.272
ethanol	46.10	61.4	513.9	0.770
benzene	78.11	48.9	562.1	0.302
acetone	58.08	47.0	508.1	0.278
carbon dioxide	44.01	73.7	304.2	0.468
H ₂ O	18.00	20.1	647.3	0.332

reactor와 200ml용 view cell reactor, 회수용 삼각플라스크(500ml)가 기본구조인 장치를 사용하였고, 초임계 유체추출 용매는 99.9%의 순도를 가진 이산화탄소(Shin Yang Oxygen Co.)를 사용하였다. 기타 deep freezer (Hanil Co., Korea), Centrifuge (Hanil Co., Korea), UV spectrometer (Kontron Uvicon 923 Italy), Homogenizer (Omni, U.S.A.), Ultracentrifuge (Sorval, U.S.A.)등을 사용하였다.

3.2. 추출시험

3,000ml용 heating jacket reactor에 1kg의 들나물과 유기용매인 에탄올 400ml를 첨가한 다음 초임계 유체인 이산화탄소를 주입시키고, 가압용 compressor와 구동용 gas booster를 작동시켜 추출하였다.

compressor regulator를 이용하여 추출반응기의 유입력을 일정하게 조절하고, 내부온도와 압력이 초임계 상태(40~50°C, 200~250atm)에 이르면 이산화탄소의 유입 밸브를 닫고, 추출반응기의 출구를 열어 임계 상태에서 들나물의 추출물을 dry ice 상태로 추출하여 삼각플라스크에 회수하였다.

3.3. CCl₄를 이용한 실험동물의 급성 독성 유발

체중 190±10 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 평균 체중 210±10 g인 것을 4군으로 나누어 사용하였고, 동물실 온도는 22~25°C의 동물 사육실에서 고형사료(삼양유지 Co.) 및 물을 자유로이 섭취토록 하였다.

실험군은 초임계 들나물 추출물을 각각 5ml/kg, b.w.과 10ml/kg, b.w.로 정상군과 대조군은 증류수를 6일간 경구투여 후 최종 분획물 투여 6시간 후에 Rao 등의 방법[15]을 보완, 수정하여 흰쥐에게 CCl₄ 0.6 mg/kg [CCl₄ : olive oil = 3 : 2(v/v)]로 1.0 mg/kg씩 복강내 투여하여 급성간 독성을 유발시켰다.

3.4. 효소원 조제 및 분석

CCl₄를 복강 투여 후 18시간 동안 절식시키고 흰쥐를 에틸에테르로 마취하여 복부를 절개하여 심장에서 직접 채혈하고 간을 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 장기 표면에 묻어 있는 혈액을 씻은 후 여지로 남아 있는 생리식염

수를 제거한 다음 무게를 측정 후 -70°C에 냉동 보관하였다가 본 실험에 사용하였다.

채취한 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청중의 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) 활성도는 Reitman-Frankel의 방법[16], alkaline phosphatase (AIP) 활성도는 Kind-King의 변법[17], γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT) 활성도는 Szaz의 방법[18], lactate dehydrogenase (LDH) 활성도는 King의 방법[19], Total cholesterol, HDL-cholesterol과 triglycerides (TG)의 함량은 Belcher 등의 방법[20]에 따라 측정하였다.

한편, 적출한 간은 1g에 4배의 0.1 M 인산 용액(pH 7.4)을 가하여 균질화 시킨 후 1차 원심분리(600×g, 15분)하여 상등액을 얻고, 이 상등액을 2차 원심분리(10,000×g, 20분)하고 그 상등액을 105,000×g로 1시간 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻어 glutathione peroxidase (GSH-Px), superoxide dismutase (SOD), catalase(CAT) 활성의 효소원으로 사용하였다.

간 조직중의 지질과산화물과 glutathione (GSH) 함량은 각각 Uchiyama 등의 방법[21]과 Ellman의 방법[22]에 따라, glutathione peroxidase 활성도는 Flohe 등의 방법[23], superoxide dismutase 활성도는 Cropo 등의 방법[24], catalase 활성도는 Aebi의 방법[25], 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법[26]에 따라 측정하였다.

3.5. 통계처리

모든 실험 결과는 평균치와 표준 ± 표준 오차로 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student's t-test를 실시하여 p값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

4. 결과 및 고찰

4.1. 초임계를 이용한 들나물 추출

들나물 1kg을 Fig. 3의 초임계 유체추출 기기에 넣고 유기용매인 에탄올(99.9%) 400ml을 넣은 다음 온도가 0~50°C, 압력이 0~250atm의 영역에서 초임계 유체인 이산화탄소를 평균 주입 유속 약 1.60 l/min(STP)으로, 초임계 온도

와 압력은 40~50℃와 200~250atm의 영역 범위에서 추출하여 40ml 를 얻었으며 수율은 약 4% 로 낮게 회수되었다.

4.2. ALT 및 AST 활성도

추출물 투여에 의한 ALT 및 AST 활성도는 Table 2 와 같다. CCl₄ 로 유발된 혈청중의 이들 효소는 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 혈중으로 유리되어 높은 활성치를 나타낸다는 Hayes[27]의 보고와 같이 정상군과 비교하여 대조군에서 각각 유의적인 증가를 나타내었다. 그러나 추출물을 5ml/kg,b.w.과 10ml/kg,b.w.의 용량으로 각각 투여한 군은 대조군과 비교하여 ALT는 34%와 52%의 감소를, 특히 10ml/kg,b.w. 을 투여한 군에서 유의적인 감소를 나타내었으며 AST는 45%와 65%의 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. 이 결과 돌나물 추출물이 CCl₄ 에 의한 간 손상의 보호 작용이 있음을 알 수 있었다.

-GT는 γ -glutamylpeptide를 가수분해하여 γ -glutamyl기를 다른 peptide나 아미노산에 전이시키는 효소로서 간세포의 변성 또는 괴사가 되면 혈중으로 유출되어 활성이 증가[29]되며, LDH도 transaminase와 마찬가지로 간조직이 파괴되면 혈액중으로 방출되어 증가를 나타낸다. 본 실험에서도 정상군과 비교하여 대조군에서 이들 활성도가 유의적인 증가를 나타내었다. 돌나물 추출물 투여에 의한 alkaline phosphatase 활성도는 대조군에 비하여 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. γ -GT는 감소를 나타내었으며 특히 10ml/kg을 투여한 군에서 유의적인 감소를 나타내었고, LDH는 추출물 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다. 이들 효소의 활성이 억제된 것은 추출물이 CCl₄ 에 의한 간조직의 손상이나 간세포막을 안정시켜서 나타나는 결과로 사료된다.

Table 2. The Effects of Extract of *Sedum sarmentosum* Bunge on the Serum ALT and AST Activities in CCl₄ Intoxicated Rats

Experimental group	Dose (ml/kg,b.w,p.o)	ALT	AST
		(KA unit/ℓ)	(KA unit/ℓ)
normal	-	32.52±3.48 ¹⁾	167.42±9.41
CCl ₄ ²⁾ control	-	137.48±16.99 ^{###}	261.81±9.68 ^{###}
SS ³⁾ + CCl ₄	5	101.28±9.72	219.29±20.45
SS + CCl ₄	10	82.70±15.61*	200.57±21.57

¹⁾Values are the mean±S.E (n=6). ^{###}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by student's t-test. ^{**}Significantly different from CCl₄ control at p<0.05, p<0.01 by student's t-test.

²⁾CCl₄ 0.6mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

³⁾*Sedum sarmentosum* Bunge.

4.3. AIP, γ -GT 및 LDH 활성도

돌나물 추출물 투여에 의한 alkaline phosphatase, γ -GT 및 LDH 활성도는 Table 3 과 같다. 정상군과 비교하여 대조군에서 이들 활성도가 유의적인 증가를 나타내었다. alkaline phosphatase는 간담도계 질환이나 신장 및 골조직의 질환이 있을 때 증가를 나타내며[28], γ

4.4. Triglyceride, Total cholesterol 및 HDL-cholesterol 함량

돌나물 추출물이 지질 함량에 미치는 영향은 Table 4와 같다. TG와 Total cholesterol 함량은 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 정상적인 간세포는 지질의 합성과 이용의 균형을 이루지만 CCl₄ 와 같

Table 3. The Effects of Extract of *Sedum sarmentosum* Bunge on the Serum AIP, γ -GT and LDH Activities in CCl₄ Intoxicated Rats

Experimental group	Dose (mg/kg,b.w,p.o)	AIP	γ -GT	LDH
		(KA units/ml)	(mu/ml)	(Wroblewski units/ml)
normal	-	17.72±1.92 ¹⁾	7.09±1.32	384.52±32.74
CCl ₄ ²⁾ control	-	23.82±1.69 [#]	10.16±1.67	508.60±30.44 [#]
SS ³⁾ + CCl ₄	5	32.50±3.40	7.58±1.53	242.08±55.14 ^{**}
SS + CCl ₄	10	28.94±2.24	4.69±1.09 [*]	185.13±40.03 ^{**}

^{1),2),3)} : See the legend of Table 1.

Table 4. The Effects of Extract of *Sedum sarmentosum* Bunge on the Serum TG, Total Cholesterol and HDL-cholesterol Contents in CCl₄ Intoxicated Rats

Experimental group	Dose (mg/kg,b.w,p.o)	TG	Total cholesterol	HDL-cholesterol
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
normal	-	66.98±7.37 ¹⁾	49.50±6.00	30.89±1.17
CCl ₄ ²⁾ control	-	98.37±6.85 [#]	67.12±3.16 [#]	8.92±3.39 [#]
SS ³⁾ + CCl ₄	5	70.03±8.29 [*]	60.12±3.78	12.21±1.64
SS + CCl ₄	10	71.41±6.30 [*]	61.20±1.64 [*]	10.76±2.07

^{1),2),3)} : See the legend of Table 1.

은 물질에 의해 손상을 받으면 반응성이 높은 CCl₄ 기가 생성되어 간세포의 기능을 저하시켜 관상동맥이나 혈장질환 특히 지질대사와 지방간의 중요 지표가 되는 이들 물질이 증가한다는 보고[27]와 유사하였다. 그러나 추출물 10ml/kg 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다. HDL-cholesterol은 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 감소를 나타내었고 추출물 투여에 의해 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다. 이는 돌나물 추출물이 CCl₄ 에 의한 간손상을 억제할 결과 정상적인 지질대사가 이루어진 것으로 사료된다.

4.5. HTR, AI 및 간 조직중의 지질과산화물 함량

혈청 지질농도가 심혈관계질환에 미치는 영향을 조사하기 위하여 HDL-cholesterol 과 Total cholesterol과의 비율인 HTR (HDL-cholesterol / Total cholesterol ratio)과 동맥경화지수인 AI (atherogenic Index)와 간

조직중의 지질과산화물 함량을 측정된 결과 Table 5와 같다. HTR은 정상군에 비해 대조군에서 유의적인 감소를, AI은 유의적인 증가를 나타내었다. 그러나 돌나물 추출물 투여시 HTR은 증가를, AI은 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다.

지질과산화물 함량은 유리기들에 의해 세포막 지질의 불포화지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로 지질과산화의 지표인 malondialdehyde (MDA) 함량은 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이 결과는 CCl₄ 와 같은 xenobiotics의 대사 또는 내적인 요인(oxygen free radical generating system)에 의해 생성된 oxygen free radical이 관여된 결과 증가되었다는 보고[30,31] 와 유사한 결과를 나타내었으나 추출물 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었다. 따라서 본 실험 결과 돌나물 추출물이 CCl₄ 에 의하여 생성된 대사산물인 trichloromethyl radical 등의 free radical 생성을 억제하거나 소거하여 간 조직중

의 지질과산화물의 함량을 감소시켜 손상된 간 기능을 회복시키고, 심혈관 순환기 질환의 초기 지표로 알려진 HTR의 증가와 AI (동맥경화지수)의 감소를 나타내어 CCl₄ 로 유발된 흰쥐에 있어서 정상적인 지질대사에 효과가 있는 것으로 사료된다.

4.6. 간 조직중의 Glutathione 함량 및 항산화 효소 활성

간 조직중의 glutathione 함량과 항산화 효소 활성은 Table 6과 같다. glutathione 함량은 정상군과 비교하여 대조군에서 감소를 나타내었으나 유의성은 없었고 추출물 투여, 특히 10ml/kg 투여에 의해 유의적인 증가를 나타내었다.

glutathione은 비효소계 물질로써 생체내에서 친전자성 물질, hydroxyl radical과 같은 물질의 강력한 소거제이며 또한 GSH-Px의 기질로 알려져 있다[32]. 본 실험 결과 추출물이 oxidative stress의 감소 결과 glutathione의 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 것으로 사료된다. SOD는 superoxide anion radical을 반응성이 약한 H₂O₂로 전환시켜 세포의 산화적 손상에 대한 방어 작용에 관여 한다는 보고[33]에 따라 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 추출물을 투여한 군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 추출물이 조직세포의 손상을 초래하는 superoxide radical의 생성을 억제시킨 결과로 사료된다. Catalase 는

Table 5. The Effects of Extract of *Sedum sarmentosum* Bunge on the Serum HTR, AI and Hepatic Lipid Peroxide Content in CCl₄ Intoxicated Rats

Experimental group	Dose (ml/kg, b.w, p.o)	HTR ¹⁾	AI ²⁾	Lipid peroxide ³⁾
normal	-	0.67±0.09 ⁴⁾	0.62±0.17	4.95±0.97
CCl ₄ ⁵⁾ control	-	0.13±0.05 ⁶⁾	10.86±2.80 ⁷⁾	17.23±2.06 ⁸⁾
SS ⁹⁾ + CCl ₄	5	0.21±0.06	4.51±0.78	9.24±2.09 [*]
SS + CCl ₄	10	0.20±0.03	5.63±1.47	5.49±0.98 [*]

¹⁾HTR : HDL-cholesterol/Total cholesterol ratio

²⁾AI : Atherogenic index : (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

³⁾MDA nmoles/g of tissue

^{4),5),6)} : See the legend of Table 1.

Table 6. The Effects of Extract of *Sedum sarmentosum* Bunge on the Hepatic Glutathione Content and Cytosolic SOD, Catalase and GSH-Px Activities in CCl₄ Intoxicated Rats

Experimental group	Dose (ml/kg, b.w, p.o)	Glutathione ¹⁾	SOD ²⁾	Catalase ³⁾	GSH-Px ⁴⁾
normal	-	9.97±0.39 ⁵⁾	23.02±5.67	376.80±20.89	2.03±0.18
CCl ₄ ⁶⁾ control	-	9.39±0.39	58.84±10.03 ⁷⁾	1118.18±269.77 ⁸⁾	2.99±0.26 ⁹⁾
SS ¹⁰⁾ + CCl ₄	5	10.06±0.75	20.33±3.40 [*]	208.50±29.95 [*]	2.39±0.44
SS+CCl ₄	10	11.86±0.31 [*]	23.51±6.26 [*]	179.34±24.41 [*]	2.51±0.11

¹⁾nmoles/mg/protein/min, ²⁾Unit/mg/protein/min, ³⁾moles/mg/protein/min

⁴⁾nmoles NADPH/mg/protein/min

^{5),6),7)} : See the legend of Table 1.

SOD가 일차적으로 superoxide anion radical을 H_2O_2 로 전환시켜 H_2O 나 O_2 로 분해시키는 효소 [34]로써, 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 추출물 투여 군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 이것은 추출물이 CCl_4 투여에 의한 free radical의 생성을 억제시킨 결과로 생각된다. 한편, GSH-Px는 selenium을 갖은 항산화제의 하나로 체내에 존재하는 glutathione을 기질로 하여 과산화지질과 H_2O_2 을 분해함으로써 조직의 손상을 방지하는 효소 [35]로 정상군과 비교하여 대조군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소 투여에 의해 생성된 H_2O_2 를 분해하기 위하여 증가된 결과로 생각된다. 그러나 추출물을 투여한 군에서 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. 이상의 결과에서 이들 추출물이 생체내 free radical의 생성을 억제한 결과 SOD, catalase 및 GSH-Px의 활성도를 감소시킨 결과로 사료된다.

5. 결 론

초임계 유체인 이산화탄소를 이용하여 들나물을 추출하여 흰쥐에게 투여한 후 CCl_4 투여에 의한 간 독성에 대한 지질대사, 지질과산화 및 항산화에 미치는 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. CCl_4 투여로 증가된 ALT, AST, AIP, γ -GT 및 LDH 활성치가 들나물 추출물 투여로 저하되었으며, 특히 10mg/kg의 용량으로 투여한 군에서 ALT, γ -GT 및 LDH 활성치가 유의성 있는 감소를 나타내었다.
2. CCl_4 투여로 증가된 triglyceride 과 total cholesterol 함량이 들나물 추출물 투여로 감소를 나타내었고, HDL-cholesterol 함량은 증가되었지만 유의성은 없었다. 특히 간 조직중의 지질과산화물의 함량을 감소시켜 손상된 간기능을 회복시키고, 심혈관 순환기 질환의 초기 지표로 알려진 HTR의 증가와 AI (동맥경화지수)의 감소 현상을 나타냄으로써, 정상적인 지질대사를 보여준다.

3. CCl_4 투여로 감소되었던 간 조직중의 glutathione 함량이 유의적으로 증가되었고, SOD, catalase 및 GSH-Px 등의 항산화 효소 활성은 반대로 유의적인 감소 현상을 나타내었다.

이상의 실험을 통하여, 들나물 추출물은 CCl_4 와 같은 xenobiotics 투여에 의해 생성되는 free radical의 소거나 억제력을 갖는 항산화 물질을 함유하고 있음이 확인되었다.

감사의 글

이 논문은 2004학년도 대전대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구의 결과이며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. J. Neuzil., J. Gebick, and R. Stocker, Radical Induced Chain Oxidation of Proteins and Its Inhibition by Chain Breaking Antioxidants, *Biochem. J.*, 293, 601 (1993).
2. D. Steinberg, S. Pathasarathy, T. E. Carew, J. C. Khoo, and J. L. Witztum, Beyond Cholesterol. Modifications of Low Density Lipoproteins that Increase Its Atherogenicity, *N. Engl. J. Med.*, 312, 915 (1989).
3. W. P. Gary and D. L. Cynthia, The Role of Oxidative Stress in HIV Disease. *Free Radical, Biology and Medicine*, 19, 523 (1995).
4. R. O. Recknagel, Carbon Tetrachloride Hepatotoxicity, *Pharmacol. Rev.*, 19, 145 (1976).
5. T. C. Butler, Reduction of Carbon Tetrachloride in vivo and Reduction of Carbon Tetrachloride and Chloroform in vitro by Tissues and Constituents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 143, 311 (1990).
6. C. Borek, Antioxidant Health Effects of Aged Garlic Extract, *J. Nutrition* 131,

- 1010s (2001).
7. E. Middleton, Biological Properties of Plant Flavonoids an Overview, *Int. J. Pharmacognosy* 34, 344 (1996).
 8. A. Y. Kuresh and A. J. James, A Possible Emerging Role of Phytochemicals in Improving Age-related Neurological Dysfunctions: A Multiplicity of Effects, *Free Radical Biology and Medicine* 30, 583 (2001).
 9. 윤국병, 장준근, “몸에 좋은 산야채”, p. 376, 석오출판사, 서울 (1992).
 10. 지형준, “건강식품생약”, p. 8, 서울대학교 출판부, 서울 (1999).
 11. 김상애, “개정 새식품성분표”, p. 68, 부산여자대학교 출판부, 부산 (1996).
 12. W. H. Kim, S. J. Bae, and M. Y. Kim, The Effects of Sedum Sarmentosum Bunge on Serum Lipid Concentration in Ovariectomized Rats, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 31, 290 (2002).
 13. M. Y. Kim, The Effects of Sedum Sarmentosum Bunge on Collagen Content of Connective Tissues in Ovariectomized Rats, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 32, 1114 (2003).
 14. K. C. Sung, A Study on the Antimicrobial Effect of Garlic Extract using Super-Critical Carbon Dioxide, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, 20, 51 (2002).
 15. V. C. Rao and H. M. Nehendale, Colchicine Antimiosis Abolishes CCl4 Autoprotection, *Toxicol. Pathol.*, 19, 597 (1991).
 16. S. Reitman and S. Frankel, A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic Oxaloacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 58 (1957).
 17. S. Kawano, H. Nakagawa, and H. Toga, Investigation on Physiological Values of Blood in Industrial Workers, Report 3. Serum Colloid Reaction and Enzyme Activity Values, *Sangyo Igaku* 24, 275 (1982).
 18. G. Szaz, A Kinetic Photometric Method for Serum γ -Glutamyltrans Peptidase, *Chin. Chem.*, 16, 124 (1969).
 19. J. King, Effect of Hydrogen Ion Concentration on Lactate Dehydrogenase (LDH) Assays, *Clin. Chem.*, 18, 1443 (1972).
 20. J. D. Belcher and J. O. Egan, A Microenzymatic Method to Measure Cholesterol and Triglyceride in Lipoprotein Subfractions Separated by Density Gradient Ultracentrifugation from 200 microliters of plasma or serum, *J. Lipid Res.*, 32, 359 (1991).
 21. M. Uchiyama and M. Mihara, Determination of Malondialdehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test, *Anal. Biochem.*, 86, 271 (1978).
 22. G. L. Ellman, Tissue Sulfhydryl Groups, *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, 70 (1959).
 23. L. Flohe, A. Wolfngn, and W. A. Gunzler, Assay of Glutathione Peroxidase, *In Methods in Enzymatic Analysis*, New York, Academic Press, Inc. 105, 114 (1984).
 24. C. H. Cropp, J. M. McCord, and E. Fridovich, Preparation and Assay of Superoxide Dismutase. “Methods in Enzymology”, S. Fleischer and L. Packer (eds.), 52, p. 382, Academic Press, New York (1978).
 25. H. Aebi, “In Methods of Enzymatic Analysis”, H. U. Vergmeyer (ed.), 2, p.673, Academic Press. New York (1974).
 26. O. H. Lowry, N. Rosebrough, A. L. Farr, and R. T. Randall, Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951)
 27. A. W. Hayes, “Principles and Methods of Toxicology”, p.407 Raben Press, New York (1982).
 28. A. F. Hofmann and H. Popper, Ursodeoxycholic Acid for Primary Biliary Cirrhosis, *Lancet*, 2, 398 (1987).
 29. J. B. Whitfield, R. E. Pounder, G. Neale, and D. W. Moss, Serum γ -Glutamyl Transpeptidase Activity in Liver Disease,

- Gut, 13, 702 (1972).
30. E. G. Han and S. Y. Cho, Effect of *Codonopsis lanceolata* Water Extract on the Activities of Antioxidative Enzymes in Carbon Tetrachloride Treated Rats, J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 26, 1181 (1997).
 31. R. O. Recknagel, E. A. Glende, and A. M. Hruszkewycz, "Chemical Mechanism in Carbon Tetrachloride Toxicity. In Free Radicals in Biology", W. A. Pryor (ed), p. 97, Academic Press, New York (1997).
 32. M. J. Burkitt and J. Duncan, Effects of Trans Resveratrol on Copper Dependent Hydroxyl Radical Formation and DNA Damage : Evidence for Hydroxyl Radical Scavenging and a Novel, Glutathione Sparing Mechanism of Action, Archives of Biochem. Stry. and Biophysics 381, 253 (2000).
 33. J. M. Mates, C. Perez, and I. Castro, Antioxidant Enzymes and Human Diseases, Clin. Biochem., 32, 595 (1999).
 34. A. Deisseroth and A. L. Dounce, Catalase Physical and Chemical Properties, Mechanism of Catalysis and Physiological Role, Physiol. Rev., 50, 3 (1970).
 35. G. Aykac, The Effects of Chronic Ethanol Indigestion on Hepatic Lipid Peroxide, Glutathione, Glutathione Peroxidase and Glutathione Transferase in Rats, Toxicol., 35, 71 (1985).