

## 하수오 추출물 투여가 Streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐의 항산화작용에 미치는 효과

김옥경\*

대전대학교 자연과학대학 식품영양학과

## Antioxidative Effect of *Polygoni radix* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Ok-Kyung Kim\*

Dept. of Food Science and Nutrition, Daejin University, Po Chon Kyung Ki Do 487-711, Korea

**Abstract** – This study was done to investigate the antioxidative effect of *polygoni radix* in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats. Diabetes was induced by intravenous injection of STZ at a dose of 45 mg/kg dissolved in citrate buffer. The ethanol extract of *Polygoni radix* was orally administrated once a day for 7 days. The contents of Total cholesterol, triglyceride (TG) were significantly decreased in *Polygoni radix* treated STZ-sample group compared with to the those of STZ-control group. The hepatic cytosolic activities of glutathione-s-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD) were significantly increased, Also the content of glutathione (GSH) was increasaed in *Polygoni radix* treated STZ-sample group compared with to the those of STZ-control group. but the content of malondialdehyde (MDA) and the hepatic cytosolic activity of Catalase (CAT) were decreased but not statistical significant. These results indicated that ethanol extract of *polygoni radix* was effective for the anti-oxidative in the STZ-induced diabetic rats.

**Key words** – streptozotocin, antioxidant effects, polygoni radix.

인간의 생명유지에 필수 성분중의 하나인 산소는 전자전달계의 최종 전자 수용체가 되며 체내의 각종대사 과정에서 super oxide anion ( $\cdot O_2^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot OH$ ), peroxy radical ( $ROO \cdot$ ), alkoxy radical ( $RO \cdot$ ) 등의 활성 산소종들이 생성된다. 이들 활성 산소종들은 체내에서 끊임 없이 생성되어 체내 유해세균의 살균작용이나 노화된 단백질의 제거등에 이용되지만 과량으로 만들어진 이들 활성 산소종들이 소거되지 않으면 일시적 혹은 영구적으로 생체 조직에 손상을 주어 최근에 많은 문제가 되고 있는 동맥경화증(atherosclerosis), 암(cancer), 류마티스성 관절염(rheumatoid arthritis), 염증(inflammation)등을 일으키는 원인이 됨이 보고되었다<sup>1,2)</sup>. 한편, 생체내에는 이러한 활성산소종들의 항상성을 유지하기 위해 superoxide dismutase (SOD), glutathione-s-transferase (GST), Catalase (CAT) 및 glutathione (GSH) 등과 같은 내인성 제거제<sup>3)</sup>와 식품속의 vitamin A, C, E,

flavonoid계 색소, polyphenol류 등의 생리활성 물질등이 체내에서 과잉 생성된 활성 산소종들에 의한 조직 손상을 방어한다는 보고가 있다<sup>4)</sup>. 본실험에 사용한 하수오는 여귀과에 속하는 *Polygonum multiflorum thunberg*의 덩이 뿌리를 말린것이며 그 성분은 starch 45%, crude fat 3.1%, anthraquinone: emodin, chrysophanol, lecithin 등이 함유되어 있으며, 효능은 강장작용, 고지혈증저하, 혈당강하작용 등이 보고 되었다<sup>5)</sup>. 따라서 본 연구에서는 Streptozotocin (STZ)으로 당뇨병이 유발된 흰쥐에게 혈당강하 효과를 갖는 하수오 에탄올 추출물을 1일 1회 7일간 경구 투여한 후 혈당강하작용이 있음을 확인 분석하여 발표<sup>6)</sup> 한 것을 바탕으로 본 실험에서는 STZ와 같은 약물이나 독성물질로부터 생체내에서 생성되는 활성산소종들의 제거에 관여하는 SOD, GST, catalase, GSH와 같은 항산화 작용에 미치는 영향을 실험한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고 하고자 한다.

\*교신저자 (E-mail): okkim@daejin.ac.kr  
(Tel): 031-539-1863

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용한 하수오는 2005년 4월 서울 경동시장에서 구입(경북 영주 산)하였으며, 표품은 대전대학교 생명과학과 표본실 (표본번호: K-0017401)에 보관중이다.

**시약 및 기기** - Kim<sup>6)</sup>의 방법에 따라 사용하였다.

**추출 실험** - 하수오 600 g에 에탄올 1,500 ml를 넣고 90°C의 추출장치에서 4시간씩 3회 추출 후 회전식 진공 농축기에서 농축하여 하수오 에탄올 추출물을 얻었다.

**당뇨유발 및 검액의 조제** - 체중 220±10 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 3군으로 나누어 하룻밤 동안 절식시킨 후 당뇨 유발군은 streptozotocin (STZ)을 45 mg/kg, b.w. 용량으로 0.01 M citric acid buffer (pH 4.5)에 녹여 2 ml/kg, b.w.의 용량으로, 정상군은 0.9% saline을 꼬리정맥에 주사를 하였다. STZ 주사 48시간 후에 눈의 정맥으로부터 혈액을 채취하여 3000 rpm/ 20분 원심분리하여 혈당수준이 300 mg/dl 이상인 것을 당뇨 유발 흰쥐로 간주하였다. 정상군 (normal), 당뇨 유발 대조군 (STZ-control), 당뇨 유발 실험군 (STZ-sample)의 3군으로 나누고 그룹당 7마리씩 나누어 정상군과 당뇨 유발 대조군에는 0.5% carboxyl methyl cellulose (CMC) 용액만을, 실험군은 하수오 에탄올 추출물을 500 mg/kg, b.w. 용량으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10 ml/kg, b.w.씩 1일 1회 7일간 경구 투여 하였다.

**효소원 조제 및 분석** - 최종 투여 24시간 후 흰쥐를 ether로 마취하여 복부 절개 후 심장에서 직접 채혈하고 간을 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 장기 표면에 묻어 있는 혈액을 씻은 후 여지로 남아 있는 생리식염수를 제거한 다음 무게를 측정하고 -70°C에 냉동 보관하였다가 본 실험에 사용하였다. 혈청중의 TG, 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 함량과 간 조직내의 지질과산화물과 GSH 함량과 cytosol 분획중의 GST, SOD, CAT 활성의 효소원 조제를 위한 시료의 전처리와 측정은 Kim<sup>7)</sup>과 같은 방법으로 하였다.

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

## 결과 및 고찰

**하수오 추출물** - 하수오 600 g을 에탄올 1,500 ml에 넣고 90°C가 유지되는 추출장치에서 4시간씩 3회 추출 후 회전식 진공 농축기에서 농축하여 55 g의 에탄올 추출물(수율 9.2%)을 얻었다.

**지질성분 함량 분석** - 추출물 투여에 의한 혈청지질 성분 함량은 Table I과 같다. 총콜레스테롤과 TG의 함량은 정상군에 비해 당뇨대조군에서 각각 85.70±6.21 mg/dl, 113.57±21.36 mg/dl로 유의적인 증가(*p*<0.05)를 나타내었다 그러나 하수오 추출물 투여에 의하여 총 콜레스테롤은 66.50±3.72 mg/dl, TG 함량은 29.10±6.42 mg/dl로 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 감소(*p*<0.05)를 나타내었다. 이는 Kim<sup>7)</sup>의 보고와 유사하였다. 한편, HDL-콜레스테롤 함량은 Table I와 같이 정상군에 비해 당뇨 대조군에서 증가를 나타내었고 추출물 투여에 의해서는 감소를 나타내었다. 혈청지질 농도가 당뇨 합병증의 일종인 심혈관계 질환에 미치는 영향을 조사하기 위하여 HDL-콜레스테롤과 총콜레스테롤과의 비율인 HTR과 동맥경화지수인 AI (Atherogenic Index)를 구한 것은 Table II와 같다. HTR은 정상군에 비해 당뇨 대조군에서 0.59±0.08를 나타내었으나 추출물 투여에 의해서 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다. AI은 정상군에 비하여 당뇨대조군에서 0.93±0.39로 증가를 나타내었으나 추출물 투여에 의해서 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. 이는 Lim<sup>8)</sup>의 실험과 유사한 결과를 나타내었다. 따라서 지질 성분 분석 결과 총 콜레스테롤과 TG 함량의 유의적인 감소(*p*<0.05)와 HTR의 증가, AI의 감소를 나타내어 하수오 추출물이 당뇨합병증으로 유발될 수 있는 심혈관계 질환의 대사에 효과가 있는 것으로 사료된다.

**Table I.** The Serum Lipid Profile of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Polygoni radix*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Triglyceride (TG)	Total cholesterol	HDL-cholesterol
		(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
Normal	-	64.32±6.70 <sup>1)</sup>	65.51±3.73	45.83±2.62
STZ <sup>2)</sup> -control	-	113.57±21.36 <sup>#</sup>	85.70±6.21 <sup>#</sup>	51.35±8.24 <sup>#</sup>
STZ + PR <sup>3)</sup>	500	29.10±6.42*	66.50±3.72*	43.64±6.90

<sup>1)</sup>Values are the mean±S.E.(n=7).

<sup>2)</sup>Streptozotocin (45 mg/kg, b.w) [0.01M citric acid buffer (pH 4.5)] was i.p. injected into the tail vein. <sup>#</sup>Significantly different from normal at *p*<0.05, \*Significantly different from STZ-control at *p*<0.05 by student's *t*-test.

<sup>3)</sup>The ethanol extract of *Polygoni radix* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

**Table II.** The HTR and AI of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Polygoni radix*.

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	HTR <sup>1)</sup>	AI <sup>2)</sup>
Normal	-	0.71±0.06 <sup>3)</sup>	0.39±0.10
STZ <sup>4)</sup> -control	-	0.59±0.08	0.93±0.39
STZ + PR <sup>5)</sup>	500	0.69±0.11	0.70±0.16

<sup>1)</sup>HTR: HDL-cholesterol/Total cholesterol ratio.

<sup>2)</sup>AI: Atherogenic Index: (Total cholesterol-HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol.

<sup>3)</sup>Values are the mean±S.E. (n=7).

<sup>4)</sup>Streptozotocin (45 mg/kg, b.w) [0.01 M citric acid buffer (pH 4.5)] was i.p. injected into the tail vein.

<sup>5)</sup>The ethanol extract of *Polygoni radix* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

**간 조직 중의 과산화 지질(MDA) 및 glutathione 함량** – Lipid peroxide 반응은 유리기들에 의해 세포막 지질의 불포화지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로, lipid peroxide의 지표가 되는 malondialdehyde (MDA) 함량은 Table 3와 같다. MDA 함량은 정상군과 비교하여 당뇨 대조군에서 증가를 나타내었다. 이는 STZ가 췌장의 β-세포에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성을 자극시켜 활성산소종들의 생성을 항진시킨 결과 증가된 것이라는 보고와 유사하였다.<sup>9,10)</sup> 그러나 추출물 투여시 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. 당뇨가 유발되면 지질대사 이상으로 혈액중의 지질이 증가되고 과다한 lipid peroxide 생성에 의한 혈관계 및 동맥경화증의 조직손상 가능성 등이 보고 되고 있다.<sup>11,12)</sup> 한편, Glutathione (GSH) 의 함량은 Table III과 같이 정상군에 비하여 당뇨 대조군에서 감소를 나타내었으나 추출물 투여에 의하여 7.79±0.55 moles/g of tissue로 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다. 특히, glutathione은 세포내의 활성산소종들의 제거, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 과산화지질등의 독성 물질을 전이, 분해, 이물질의 포합 형성 반응등에 쓰이며 또한 단백질이나 DNA의

**Table III.** The contents of malondialdehyde (MDA) and Glutathione (GSH) in Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Polygoni radix*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	MDA <sup>1)</sup>	GSH <sup>2)</sup>
Normal	-	1.55±0.60 <sup>3)</sup>	8.38±1.02
STZ <sup>4)</sup> -control	-	4.98±3.39	6.65±0.91
STZ + PR <sup>5)</sup>	500	3.74±0.31	7.79±0.55

<sup>1)</sup> Lipid Peroxide : nmoles/g of tissue.

<sup>2)</sup> Glutathione : moles/g of tissue.

<sup>3)</sup>Values are the mean±S.E. (n=7).

<sup>4)</sup>Streptozotocin (45 mg/kg, b.w) [0.01 M citric acid buffer (pH 4.5)] was i.p. injected into the tail vein.

<sup>5)</sup>The ethanol extract of *Polygoni radix* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

합성, 아미노기의 이동, 효소 활성의 조절등 체내의 중요한 반응에 관여하는 물질로 보고<sup>13,14)</sup>되었다. 따라서 본 실험 결과 추출물이 STZ 투여로 생성된 활성산소종들의 제거로 glutathione의 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 결과로 사료된다.

**간 조직 중의 glutathione-S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD) 및 Catalase (CAT)의 활성** – 추출물 투여에 의한 GST, SOD 및 CAT 활성 변화는 Table IV와 같다. GST는 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 감소 (p<0.05)를 나타내어 Bang 등<sup>15)</sup>의 실험과 비슷한 결과를 나타내었다. 그러나 추출물 투여에 의해 190.13±9.60 nmoles/mg/protein/min로 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었다. 이는 GST가 체내에서 생성된 친전자성 독성 물질에 glutathione의 thiol기를 포집시켜서 독성 물질을 전이 분해시키는 작용을 한다는 보고<sup>16)</sup>에 따라 추출물이 독성 물질을 glutathione에 포집시켜 배설을 촉진 시킴으로써 STZ 투여에 의한 간손상을 보호하여 그 함량이 증가된 결과로 사료된다.

**Table IV.** The Hepatic Cytosolic GST, SOD and CAT Activities of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Polygoni radix*

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	GST <sup>1)</sup>	SOD <sup>2)</sup>	CAT <sup>3)</sup>
Normal	-	131.71±8.91 <sup>4)</sup>	31.29±6554	252.23±82.67
STZ <sup>5)</sup> -control	-	103.69±6.40 <sup>#</sup>	8.44±2.71 <sup>#</sup>	657.74±63.54 <sup>#</sup>
STZ + PR <sup>6)</sup>	500	190.13±9.60*	18.38±2.20*	636.54±41.86

<sup>1)</sup>Glutathione-S-transferase : nmoles/mg/protein/min.

<sup>2)</sup>Superoxide dismutase : units/mg/protein/min.

<sup>3)</sup>moles/mg/protein/min.

<sup>4)</sup>Values are the mean±S.E. (n=7) <sup>#</sup>Significantly different from normal at p<0.05, \*Significantly different from STZ-control at p<0.05 by student's t-test.

<sup>5)</sup>Streptozotocin(45 mg/kg, b.w) [0.01 M citric acid buffer (pH 4.5)] was i.p. injected into the tail vein.

<sup>6)</sup>The ethanol extract of *Polygoni radix* was administrated orally once a day in experimental rats for 7 days.

SOD는 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내어 Bang등<sup>15)</sup>의 실험과도 비슷한 결과를 나타내었으나 추출물 투여에 의해  $18.38 \pm 2.20$  units/mg/protein/min로 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 증가( $p < 0.05$ )를 나타내었다 이는 Lim등<sup>8)</sup>의 보고와 비슷한 결과를 나타내었다. SOD는 세포내 호흡작용의 부산물로 생성되는 superoxide radical이 효소 반응에 의해 제거됨으로써 과산화수소가 세포내에 축적되는 것을 막아 세포내 항산화능을 증가시킨다는 보고에 따라 하수오 추출물이 STZ와 같은 독성 물질에 의한 세포의 산화 스트레스 저하에 따른 간 조직의 손상이 억제되어 SOD의 활성이 증가된 결과로 사려된다<sup>17)</sup>. Catalase는 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며 이는 Lee등<sup>17)</sup>, Kim등<sup>18)</sup>의 보고와 유사하였다. Catalase는 체내에서 지방의 자동산화 및 유기물의 산화로 생성되는  $H_2O_2$ 를  $H_2O$ 와  $O_2$ 로 분해하여 무독화 시키는 radical scavenging enzyme<sup>19)</sup>으로 STZ 투여로 인해 당뇨대조군에서 catalase 활성도가 유의적으로 증가 ( $p < 0.05$ )하였으나 하수오 추출물 투여로 감소를 나타내었다. 이는  $H_2O_2$ 와 MDA의 생성을 억제하여 조직의 손상을 완화시킨 결과 CAT의 활성이 감소된 것으로 사려된다.

## 결 론

Streptozotocin (STZ)으로 유발된 당뇨 흰쥐에게 하수오 에탄올 추출물을 500 mg/kg, b.w용량으로 1일 1회 7일간 경구 투여 후 지질대사 및 항산화 작용의 실험결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 당뇨 유발로 인하여 증가된 TG 총콜레스테롤, AI의 수치는 추출물 투여에 의하여 감소를 나타내었으며, HTR은 추출물 투여에 의하여 증가를 나타내었다.

2. malondialdehyde (MDA)는 추출물 투여에 의한 감소를, glutathione (GSH)은 증가를 나타내었으나 통계적으로 유의성은 없었다.

3. GST, SOD 활성도가 추출물 투여에 의해 통계적으로 유의적인 증가 ( $p < 0.05$ )를 나타내었으며, catalase 활성도는 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다.

이상의 실험을 통하여 하수오 에탄올 추출물이 STZ로 유발된 흰쥐의 지질대사의 개선효과 및 항산화 작용을 갖는 유효 성분을 함유하고 있음을 알 수 있었으며 앞으로 이를 바탕으로 보다 심도 있는 실험을 위하여 세부분석과 효능 검사의 연구를 계획하고자 한다.

## 참고문헌

1. Neuzil, J., Gebicki, M., and Stocker, R. (1993) Radical-induced chain oxidation of proteins and its inhibition by chain

- breaking antioxidants. *Biochem. J.* **293**: 601-606
2. Stein Berg, D., Pathasarathy, S. Carew, T.E., Khoo, J. C. and Witztum, J. L. (1989) Beyond cholesterol, modifications of low-density lipoproteins That increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* **320**: 915-923.
3. Hassan, H. M. (1988) Free Radical. *Biol. Med.*, **5**: 377-384
4. Byers, T., and Perry, G (1992) Dietary Carotenes, Vitamin C and Vitamin E as Protective Antioxidants in Human Cancers. *Ann. Rev. Nutr.*, **12**: 135-140.
5. Ji, H. J. (1999) Health foods from herbs. *seoul national university publish* 168-169.
6. Kim, O. K. (2008) Antidiabetic effects of Ha-Su-(polygoni radix) *J. of Korean oil chemist's Society* **25**: 347-354.
7. Kim, O. K. (2009) Antidiabetic and antioxidative effects of *Lycii fructus* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 128-136.
8. Lim, H. J., Cho, K. h. and Choue, R. W. (2005) The effects of functional tea(*Mori Folium, Lycii Fructus, Chry santhemiflos, Zizyphi Fructus, Sesamum Semen, Raphani Semen*) supplement with medical nutrition therapy on the blood lipid levels and antioxidant status in subjects with hyperlipidemia *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 42-45.
9. Asyama, K., Slonim, A. E. and Buer, I. U. (1984) Chemiluminescence as an index of drug induced free radical production in pancreatic islets. *Diabetics* **33**: 160-163.
10. Takasu, N., Komiya, I., Asasa, T., Nagasawa, and Yamada, Y. T. (1991) Streptozotocin and alloxan induced  $H_2O_2$  generation and DNA fragmentation a pancreatic islets. *Diabetes* **40**: 1141-1145.
11. Latha, M. and Pari, L. (2003) Modulatory Effect of *Scoparia dulcis* in Oxidative Stress-Induced Lipid Peroxidation in Streptozotocin Diabetic Rats. *J. Med. Food.* **6**: 379-386.
12. Vos, R. M. and Bladern, P. J. V. (1990) Glutathione-S-transferase in Relation to Their Role in the Biotransformation of Xenobiotics. *Chem. Biol. Interact.*, **75**: 241-265.
13. Yoon, C. K., Kim, H. H., Chae, S. N., OH, M. J. and Lee, G. H. (2001) Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diet supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**: 668-671.
14. Kim, N. J. Youn, H. G. and Hong, N. D (1994) Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. *Korean Soc. Pharmacog.* **25**: 264-270.
15. Bang, M. A., Kim H. A. and Cho, Y. J. (2002) Hypoglycemic and Antioxidant Effect of Dietary Hamcho Powder in Streptozotocin- induced diabetic rats. *J. korean soc. food sci. nutr.* **31**: 840-846.
16. Cropro, C. H., McCord, J. M. and Fridovich, E. (1978) Preparation and Assay of Superoxide Dismutase. *In Methods in Enzymology*; Fleischer, D. and Packer, L.(eds.), *Academic Press*, New York **52**: 382.
17. Lee, S. Z., Park, S. H. and Lee, H. S (2001) Changes in vivo

- lipid peroxidation and antioxidant defense system in streptozotocin induced diabetic rats: a time course study. *J. Korean nutrition society* **34**: 253-264.
18. Kim, N. Y., Jung, H. K., Park, M. J., Kim, S. J. (2005) Effects of *Formes fomentarius* extract on blood glucose, lipid profile and Immune cell in streptozotocin induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 825-832.
19. Chow, C. K. (1979) Nutritional influence on cellular anti-oxidation defence systems. *Am. J. clin. nutr.* **32**: 1066-1081.

(2009년 8월 6일 접수)