

## 우영 뿌리 에탄올 추출물이 Streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐의 항산화에 미치는 영향

김옥경<sup>†</sup>

<sup>†</sup>대진대학교 자연과학대학 식품영양학과  
(2016년 7월 13일 접수; 2016년 8월 5일 수정; 2016년 9월 2일 채택)

### Antioxidative Effect of Ethanol Extract on *Arctium lappa* root in Streptozotocin Induced Diabetic Rats

Ok-Kyung Kim<sup>†</sup>

<sup>†</sup>Department of Food Science and Nutrition, Dae Jin University,  
Pochon 487-711, Korea

(Received July 13, 2016; Revised August 5, 2016; Accepted September 2, 2016)

**요약** : Streptozotocin(STZ)을 45mg/kg, body weight(b.w)의 용량으로 흰쥐의 미정맥에 투여 한 후 유발된 당뇨 흰쥐에게 우영 뿌리 에탄올 추출물을 1일 1회 7일간 1,000mg/kg,bw의 용량으로 투여하고 항산화작용에 관여하는 glutathione-s-transferase(GST), catalase(CAT), glutathioneperoxidase(GSH-Px)활성과 malondialdehyde(MDA)와 glutathione(GSH) 함량을 측정된 결과 우영 뿌리 에탄올 추출물 투여군에서 MDA 함량, CAT와 GSH-Px 활성 등의 유의적인 감소(p<0.05)를, GSH 함량과 GST 활성은 유의적인 증가(p<0.05)를 나타내었다. 이와 같이 우영 뿌리 에탄올 추출물이 항산화 개선효과를 갖는 유효성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

**주제어** : 우영 뿌리 에탄올 추출물, 스트렙토조토신, 항산화효과

**Abstract** : This study was carried to investigate the antioxidative effect of ethanol extract of *Arctium lappa*(Al) root in Streptozotocin(STZ)- induced diabetic rats. Diabetes was induced by intravenous injection of STZ at a dose of 45mg/kg,body wight(b.w) dissolved in citrate buffer. The ethanol extract of *Al* root was orally administrated once a day for 7 days at a dose of 1,000mg/kg,b.w. The contents of malondialdehyde(MDA) and activities of catalase (CAT), glutathione peroxidase(GSH-Px) were significantly decreased(p<0.05) in *Al* treated group compared to the those of STZ-control group. The content of glutathione(GSH) and activity of glutathione-s-transferase(GST) was significantly increased(p<0.05). These results indicated that ethanol extract of *Al* root would have antioxidative effect in STZ-induced diabetic rats.

**Keywords** : ethanol extract of *Arctium lappa* (Al) root, streptozotocin, antioxidative effect.

<sup>†</sup>Corresponding author (E-mail: okkim@daejin.ac.kr)

## 1. 서론

생명유지의 필수 성분중의 하나인 산소는 전자 전달계의 최종 전자 수용체가 되며 체내의 각종 대사 과정에서 super oxide anion( $O_2^-$ ), hydroxyl radical( $\cdot OH$ ), peroxy radical( $ROO\cdot$ ), alkoxyl radical( $RO\cdot$ ) 등의 활성산소종들이 계속 생성되어 체내의 유해 세균의 살균작용 또는 노화된 단백질의 제거등에 이용되지만 과량으로 만들어진 이들 활성산소종들이 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 보고 되었다[1-2]. 한편, 생체내에는 이러한 활성산소종들의 항상성을 유지하기 위해 superoxide dismutase(SOD), glutathione-s-transferase(GST), Catalase(CAT) 및 glutathione(GSH) 등과 같은 내인성 제거제[3]와 식품속의 vitamin A, C, E, flavonoid계 색소, polyphenol류 등의 생리활성 물질 등이 체내에서 과잉 생성된 활성 산소종들에 의한 조직 손상을 방어한다는 보고[4]가 있다. 본 실험에 사용한 우엉 뿌리는 국화과에 속하는 상떡잎 식물로 우리나라에서는 민간요법으로 이뇨제, 해열제로 쓰이고 있고 최근에는 고혈압, 통풍, 심혈관 질환, 간염 등의 효과가 있으며 생리활성 실험으로는 항변이원성, 항암, 항노화 등에서 항산화 기능이 있음이 보고 되었다[5-6]. 우엉 뿌리의 일반 성분은 100g당 수분 80.3%, 단백질 3.1%, 지질 0.1%, 탄수화물 15.5%, 회분 1%이며[7], 특히 다량의 식이섬유소와 당뇨에 좋은 이눌린과 항산화 물질 등이 함유되어 있음이 보고 되었다[8-11]. 따라서 본연구에서는 Streptozotocin(STZ)으로 당뇨병이 유발된 흰쥐에게 우엉 뿌리 에탄올 추출물을 1일 1회 7일간 경구 투여한 후 STZ와 같은 약물이나 독성물질로부터 생체내에서 생성되는 활성산소종들의 제거에 관여하는 GST, catalase, GSH와 같은 항산화 작용에 미치는 영향을 실험한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고 하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 시료, 시약 및 기기

시료 : 본 실험에 사용한 우엉뿌리는 2014년 4월 서울 경동시장에서 구입(경기도 이천 산)하였다.

시약 : streptozotocin (STZ), sodium azide, glutathione, glutathione reductase, NADPH, cumene hydroperoxide, 1-chloro2,4-dinitrobenzen (CDNB), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid (DTNB), xanthine, xanthine oxidase, cytochrome C, sodiumdeoxycholate, 1,1,3,3-tetraethoxypropane, thiobarbituric acid, tris-HCl, NAD, ATP, bovine serum albumin 등은 Sigma Aldrich Chemical Co.(U.S.A) 를 사용하였으며, glucose kit는 영동제약(Korea)의 것을 사용하였고, 나머지 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

기기 : rotary vacuum evaporator(Eyela Co., Japan), deep freezer(Hannil Co., Korea), centrifuge(Hannil Co., Korea), UV spectrometer (Kontron 927, Italy), homogenizer(Omni, U.S.A.), ultracentrifuge(Sorval, U.S.A.)등을 사용하였다.

### 2.2. 추출 실험

우엉뿌리 400g을 유기용매인 에탄올 1,000ml를 넣고 85°C의 추출장치에서 4시간씩 3회 추출 후 회전식 진공 농축기에서 농축하여 우엉뿌리 에탄올 추출물을 얻었다.

### 2.3. 당뇨유발 및 검액의 조제

체중  $215 \pm 15$  g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 3군으로 나누어 하룻밤 동안 절식시킨 후 당뇨유발군은 streptozotocin(STZ)을 45mg/kg, b.w. 용량으로 0.01M citric acid buffer(pH 4.5)에 녹여 2ml/kg, b.w.의 용량으로, 정상군은 0.9% saline을 꼬리 정맥에 주사를 하였다. STZ 주사 48시간 후에 눈의 정맥으로부터 혈액을 채취하여 3000rpm/20분 원심분리하여 혈청내의 혈당수준이 300mg/dl 이상인 것을 당뇨 유발 흰쥐로 간주하였다. 정상군(normal), 당뇨 유발 대조군(STZ-control), 당뇨 유발 실험군(STZ-sample)의 3그룹으로 나누고 그 룩당 7마리씩 나누어 정상군과 당뇨 유발 대조군에는 0.5% CMC 용액만을, 실험군은 우엉 뿌리 에탄올 추출물을 1,000mg/kg, b.w 용량으로 0.5% CMC 용액에 현탁시켜 10ml/kg

b.w.씩 1일 1회 7일간 경구투여 하였다.

#### 2.4. 효소원 조제 및 분석

간조직의 cytosol 분획중의 GST, CAT, GSH-Px 활성의 효소원 조제와 MDS와 GSH 함량을 위한 시료의 전처리와 측정은 Kim[12]과 같은 방법으로 하였다.

#### 2.5. 통계처리

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

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 우영 뿌리 에탄올 추출물

우영 뿌리 400 g을 1,000 mL 에탄올에 넣고 4시간씩 3회 추출 후 일반 여과지에서 여과, 회전 농축기에서 농축, 76.67g (수율 19.17 %)의 에탄올 추출액을 얻었다.

#### 3.2. 혈당 저하 효과

혈청내의 혈당저하 효과는 Table 1과 같다. 정상군의 혈당치가 148.24 $\pm$ 3.17 mg/dL에 비해 당뇨 대조군은 519.3 $\pm$ 50.93 mg/dL으로 유의적인 증가를 나타내었으나 우영 뿌리 에탄올 추출물 1,000 mg/kg,b.w.을 투여한 군에서는 207.4 $\pm$ 42.81 mg/dL로 유의적인 감소를 나타내었다.

### 3.3. 간조직중의 과산화지질(MDA) 및 GSH 함량

#### 3.3.1. Malondialdehyde(MDA) 함량 측정

유리기들에 의해 세포막 지질의 불포화지방산들이 산화적 분해를 일으키는 것으로 과산화지질의 지표가 되는 MDA 함량은 Table 2와 같다. 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 STZ 투여로 인한 당뇨유발시 oxygen free radical의 생성과 산화적 스트레스가 증가하여 조직내의 과산화지질이 증가된 결과 간 조직에서 함량이 증가 한다는 보고[13]와 비슷한 결과를 나타내었다. 한편 추출물 투여군은 8.42 $\pm$ 1.92 MDA nmoles/g of tissue로 당뇨 유발 대조군에 비하여 유의적인 감소를 나타내었다.

#### 3.3.2. GSH 함량 측정

GSH 함량은 Table 2와 같다. GSH은 비효소계 물질로써 생체내에서 친전자성 물질, hydroxyl radical과 같은 물질의 강력한 소거제이며, GSH-Px의 기질로 알려져있다[14]. 또한 세포내의 자유라디칼의 제거, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 lipid peroxide 등의 독성물질을 전이, 분해, 이물질의 포획 형성 반응등에 쓰이며 또한 단백질이나 DNA의 합성, 아미노기의 이동, 효소 활성의 조절 등 체내의 중요한 반응에 관여하는 물질[15,16]이다. 정상군은 10.93 $\pm$ 0.82 moles/g of tissue이며 당뇨 유발 대조군은 4.24 $\pm$ 0.25 moles/g of tissue로 정상군과 비교하여 유의적인 감소를 나타내었으나 추출물 투여군에서 9.21 $\pm$ 0.17로 유

Table 1. The Serum Glucose Level of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Arctium lappa* Root

Experimental group	Dose(mg/k,g,b,w,p.o)	Glucose(mg/dL)
Normal	-	148.24 $\pm$ 3.17 <sup>1)</sup>
STZ <sup>2)</sup> -control	-	519.3 $\pm$ 50.93 <sup>#</sup>
STZ+Al root <sup>3)</sup>	1000	207.4 $\pm$ 42.81 <sup>*</sup>

<sup>1)</sup>Values are the mean $\pm$ S.E.(n=5)

<sup>2)</sup>Streptozotocin(45mg/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, <sup>\*</sup>Significantly different from STZ-control at *p*<0.05 by student's *t*-test.

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

Table 2. The Contents of Hepatic MDA and GSH in Normal, and STZ-induced Diabetic Rats fed on Ethanol Extract of *Arctium lappa* Root

Group	MDA (MDA nmoles/g of tissue)	GSH (moles/g of tissue)
Normal	7.23±0.68 <sup>1)</sup>	10.93±0.82
STZ <sup>2)</sup> -control	21.75±2.34 <sup>#</sup>	4.24±0.25 <sup>#</sup>
STZ-Al root <sup>3)</sup>	8.42±1.92 <sup>*</sup>	9.21±0.17 <sup>*</sup>

<sup>1,2,3,#,\*</sup>: See the legend of Table 1.

Table 3. The Hepatic Cytosolic GST, CAT and GSH-Px Activities of Normal and Diabetic Rats Fed on Ethanol Extract of *Arctium lappa* Root

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	GST <sup>1)</sup>	CAT <sup>2)</sup>	GSH-Px <sup>3)</sup>
Normal	-	178.26±10.67 <sup>4)</sup>	826.31±97.12	1.94±0.22
STZ <sup>5)</sup> -control	-	121.74±9.36 <sup>#</sup>	1207.19±80.47 <sup>#</sup>	3.72±0.95 <sup>#</sup>
STZ+Al root <sup>6)</sup>	1,000	208.83±11.30 <sup>*</sup>	675.43±50.25 <sup>*</sup>	1.23±0.14 <sup>*</sup>

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

<sup>2)</sup>catalase : moles/mg/protein/min., GSH-Px <sup>3)</sup>: moles/mg/protein/min

<sup>4,5,6)</sup> : See the legend of Table 1.

의적인 증가를 나타내어 GSH 함량에 대한 우영 뿌리 에탄올 추출물의 효과를 볼 수 있었다.

### 3.4. 간조직중의 GST, CAT 및 GSH-Px의 활성

#### 3.4.1. GST의 활성

추출물 투여에 의한 GST 활성 변화는 Table 3와 같다. GST는 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 감소를 나타내어 Bang등[17]과 agius등[18]의 실험과 반대되는 결과를 나타내었으나, Latha 등[19]의 실험과 비슷한 결과를 나타내었다. 한편 추출물 투여에 의해 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 GST가 체내에서 생성된 친전자성 독성 물질에 glutathione의 thiol기를 포집시켜서 독성 물질을 전이 분해시키는 작용을 한다는 보고[20]에 따라 추출물이 독성 물질을 glutathione에 포집시켜 배설을 촉진시킴으로써 STZ 투여에 의한 간손상을 억제하여 그 함량이 증가된 결과로 사료된다.

#### 3.4.2. CAT의 활성

CAT는 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 증가를 나타내어 Lee 등[21], Kakkar 등[22]의 보고와 유사한 결과를 나타내었다. CAT는 체내에서 지방의 자동산화, 유기물의 산화 또는 지방분해에 의해 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해하기 위한 것이라는 보고[23]에 따라 본 실험 결과 당뇨대조군에서 CAT 활성도가 유의적으로 증가한 것으로 사료된다. 그러나 추출물 투여에 의해 유의적인 감소를 나타내었으며, 이 원인은 STZ 투여에 의한 자유라디칼의 생성을 억제시킨 결과로 사료된다.

#### 3.4.3. GSH-Px의 활성

GSH-Px는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 제거하면서 환원형 GSH를 산화형 GSH으로 전환시키는 효소[22]로서 본 실험 결과 정상군과 비교하여 당뇨대조군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 추출물 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 이 결과는 추출물이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 생성을 억제시켜 GSH-Px의 활성을 감

소시킨 결과로 사료된다.

#### 4. 결론

Streptozotocin(STZ)으로 유발된 당뇨 흰쥐에게 우영 뿌리 에탄올 추출물을 1,000mg/kg, b.w 용량으로 1일 1회 7일간 경구 투여 후 혈당 및 항산화 작용에 미치는 효과는 다음과 같았다.

1. 증가된 glucose 함량이 우영 뿌리 에탄올 추출물 투여군에서 당뇨대조군과 비교하여 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내었다.
2. 추출물 투여에 의해 MDA함량과 CAT 및 GSH-Px의 활성은 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내었다.
3. GSH함량과 GST의 활성은 유의적인 증가( $p < 0.05$ )를 나타내었다.
4. GST 활성도는 추출물 투여에 의해 유의적인 증가( $p < 0.05$ )를, CAT와 GSH-Px 활성도는 유의적인 감소( $p < 0.05$ )를 나타내었다.

이상의 실험을 통하여 우영 에탄올 추출물이 STZ로 유발된 흰쥐의 항당뇨 및 항산화작용을 갖는 유효성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

#### References

1. J. Neuzil, M. Gebicki 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.* **320** : 915 (1989).
3. H. M Hassan, Free Radical. *Biol. Med.*, **5** : 377 (1988).
4. T. Byers, and G Perry, Dietary Carotenes, Vitamin C and Vitamin E as Protective Antioxidants in Human Cancers. *Ann. Rev. Nutr.*, **12** : 135 (1992).
5. M.S. Lee. Antioxidative and Antimutagenic Effects of Arctium lappa Ethanol Extract. *Korean J. Food & Nutr.* **24**: 713(2011).
6. M.S. Kim, Y.S. Lee, H.Y. Sohn. Antithrombosis and Antioxidative activity of the root of Arctium lappa I. *Korean J. Food preserv.* **21**:727 (2014).
7. National Rural Living Science Institute, RDA 2011 8<sup>th</sup> revision food composition table Jeonju, Korea 168.
8. S.J. Han, S.J. Koo. Study on the chemical composition in Bamboo shoot, Lotus Root and Burdock(Arctium lappa)-free sugar, Fatty acid, Amino acid and dietary fiber contents. *Korean J. Food cookery Sci.* **9**(2):109(1984).
9. C.W. Urbanowicz. Evaluation of technological potential of pomace from the production of juice from burdock(Arctium lappa). *Herba. Pol.* **30**(2):109 (1984).
10. Y.K. Maruta, J.R. Niki. Antioxidant Caffeoylquinic acid derivatives in the roots of burdock(Arctium lappa). *J. Agric. Food Chem.* **43**(10):2592(1995).
11. F.A. Chen, A.B. Wa, C.Y. Chen. The influence of different on the free radical scavenging activity of burdock and variations of active composition. *Food Chem.* **86**:479 (2004).
12. O. K. Kim, Antidiabetic antioxidative effects of *Lycii fructus* in streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. Kor. Oil chemists's Soc.* **25**, 73 (2008).
13. S. Z. Lee, S. H. Park, and H. S. Lee, Changes in vivo lipid peroxidation and antioxidation defense in streptozotocin induced rats : a time course study. *J. Kor. Nutrition Society.* **34**, 253 (2001).
14. M. J. Burkitt 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).
15. G. M. Cohen, and R. B. Freedom, Roles and functions of glutathione. *Biochem. Soc. Trans.* **10**, 78 (1982).
  16. A. Meister, Selective modification of glutathione metabolism. *Science*. **220**, 472 (1983).
  17. M. A. Bang, Y. J. Cho and H. A. Kim, Effect of Indongcho on Glucose and Lipid Metabolism and Antioxidative Enzyme System in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Korean J. Dietary Culture.*, **17**, 377 (2002).
  18. C. Agius, and A. S. Gidari, Effect of Streptozotocin on the Glutathione S-transferases of Mouce Liver Cytosol. *Biochem Pharmacol.*, **34**, 811 (1985).
  19. M. Latha, and L. Pari, Modulatory Effect of *Scoparia dulcis* in Oxidative Stress-Induced Lipid Peroxidation in Streptozotocin Diabetic Rats. *J. Med. Food*, **6**, 379 (2003).
  20. B. A. Shibib, L. A. Khan and R. Rahman, Hypoglycaemic Activity of *Coccinia india* and *Morordica charantia* in Diabetic Rats : Depression of the Hepatic Gluconeogenic Enzymes Glucose-6-phosphatase and Fructose-1,6-bis phosphatase and Elevation of Both Liver and Red Cell Shunt Enzyme Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Biochem. J.*, **15**, 267 (1993).
  21. I. S. Lee, S. O. Lee and I. Z. Lee, Effects of Tissue Cultured Ginseng on Blood Glucose and Lipids in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**, 280 (2003).
  22. R. Kakkar, J. Kalra,, S. V. Mantha and K. Prasod, Lipid Peroxidation and Activity of Antioxidant Enzymes in Diabetic Rats. *Molecular and Celluar Biochemistry*. **151**, 113 (1995).
  23. O. K. Kim, S. Y. Park, and K. H. Cho, Effect of *Commelina commumis* extract on blood glucose level and changes in enzymatic activity in alloxan diabetic rats. *Kor. J. Pharmacogn.*, **22**, 225 (1991).