

초청강연 논문 1

축산식품에 이용하기 위한 쏙 성분중의  
생리활성에 관한 연구



## 축산식품에 이용하기 위한 쑥 성분중의 생리활성에 관한 연구

### The Studies on the Physiological Active Substances of Mugwort Components for the Utilization to the Foods of Animal Husbandry

李 致 鎬

建國大學校 畜産大學 動物生命科學部 畜産加工學專攻

#### Abstract

This study was conducted to investigate the effects of mugwort extracts on the blood ethanol concentration, liver function and low level of cadmium(Cd) in rats. The effects of mugwort extracts on the blood ethanol concentration was studied in Sprague-Dawley rats (10 weeks old) administered p.o. with 25% ethanol (5g/1kg body weight) and then injected with mugwort extracts (at the 2% levels of daily feed consumption compared with the concentration of catechins level in mugwort extracts) in caudal vein. SD rats were divided into five groups : control group (CON-E, only ethanol and 0.85% saline sol'n treated instead of each extracts), water extracts of mugwort treated to the control (MDW-E), ethanol extracts of mugwort treated to the control (POH-E). And then rat plasma of each time (0hr, 1hr, 2hr, 3hr) was investigated ethanol concentration by gas chromatography. Another rats were measured at the time of 0 and 5hr for the test of GOT(Glutamic Oxaloacetic Transaminase) and GPT(Glutamic Pyruvic Transaminase). Components of each extracts were analyzed by using high performance liquid chromatography. The effects of mugwort extracts on the liver function were studied in culture of rat hepatocyte composed of three groups : Control group and two groups treated with each extracts (1% & 2% MDW, 1% & 2% MOH). Condition of rat hepatocytes cultured for 36hr at 37°C(5% CO<sub>2</sub> incubator), number of cells, GOT and GPT activity were investigated. The results obtained were summarized as follows ;

1. Catechins level of mugwort extracts was 8~10mg/100g(MDW), 3~4mg/100g(MOH)
2. The contents of (-)-Epigallocatechin was high in MDW
3. The effects of mugwort extracts on the blood ethanol concentration were as follows;
  - 1) The order in ethanol degradation efficiency was MDW-E > MOH-E > CON-E.
  - 2) Ethanol concentration significantly decreased ( $p<0.05$ ) in MDW-E and MOH-E.
4. The effects of mugwort extracts on the liver function were as follows; (rat hepatocytes cultured for 36hr at 37°C)
  - 1) Cells condition of MDW-L was better than other groups.
  - 2) The order in number of cells (rat hepatocytes) was 2% MDW-L > 1% MDW-L > 1% MOH-L > CON-L > 2% MOH-L
5. Cd treatment increased concentrations of hepatic GSH level, and decreased GOT activity in

plasma.

Therefore, this results suggest that the effects of mugwort extracts may an important role in degradation ethanol and recovery liver function in body. Also, Mugwort extracts may modify the toxicities of Cd in Cd-treated rats and play an important roles in preventing the liver from various toxicants including Cd in Cd treated rats.

## 서 론

쑥은 우리나라에서 한방과 민간요법에 널리 쓰이는 약재로 지혈약, 위장병, 신경통, 천식, 소화, 부인병에 효험이 있다고 하며<sup>(1)</sup> 구황식품으로도 애용되어 왔는데 쑥의 주요 구성성분으로는 alkaloids, 비타민, 정유류 및 각종 무기질이 함유되어 있다고 보고<sup>(2)</sup>되고 있다. 이들 식물성분 중에서 특히, 녹차 등을 중심으로 한 차의 성분중에 함유되어 있는 폴리페놀류의 항산화작용, 항균 작용, 항종양작용 등에 대한 연구는 널리 보고<sup>(3, 4, 5, 6)</sup>되어져 왔다. 이처럼 쑥의 성분들 중에도 녹차에 함유되어 있는 폴리페놀류인 카테킨 성분이 많이 함유되어 있는 점으로 미루어 볼 때 쑥에도 차의 성분들과 유사한 작용<sup>(7, 8, 9, 10, 11, 12)</sup>이 있을 것으로 추측되었다. 사실상 현재까지 이러한 쑥의 기능적 효과에 관한 연구로는 쑥 정유성분의 항암작용에 관한 연구<sup>(13)</sup>, 쑥가루<sup>(14)</sup>와 쑥 수용성 추출물성분<sup>(15)</sup>이 백서(白鼠)의 영양에 미치는 영향 등에 관해서 조사되었지만 쑥의 기능적 효능에 관한 연구가 체계적으로 이루어지지 않고 있다. 더우기 체내 에탄올 분해능력에 영향을 미쳐 간기능을 개선시키거나, Cd과 같은 중금속 등에 해독작용에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 이러한 쑥의 성분에 관한 효능을 알아보기 위하여 쑥추출물을 이용해 생체 내에서 에탄올의 분해효능과 간실질세포 배양을 통한 간기능에 미치는 효과를 체계적으로 조사할은 물론 직·간접으로 식품을 통해 인체에 노출될 수 있는 Cd과 같은 중금속에 대한 작용<sup>(16, 17, 18, 19)</sup>등의 규명 등을 조사함으로써 궁극적으로 쑥의 생리활성 성분을 축산식품에 응용하기 위한 기초를 마련하고 더 나아가 인체에 응용하는데 그 목적을 두고 있다.

## 본 론

### 1. 쑥 추출물의 유효성분 조사 및 쑥 추출물이 혈중 에탄올 농도와 간기능에 미치는 효과

본 실험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley계 rat로 에탄올 분해효능 조사는 10주령(280~320g)의 수컷을 사용하였다. 쑥은 한국산 건조 쑥분말 30g을 각각 1:10의 부피비로 물 및 에탄올에 완전히 현탁시킨 후 100℃에서 환류기를 이용해 추출하여 그 증류액을 플라스크에 모아 진공농축을 하였다. 진공농축을 한 쑥의 추출물은 냉동보관하며 시료로 사용하였고 쑥 성분중의 카테킨함량은 HPLC를 이용하여 조사하였다.

쑥 추출물의 효능을 알아보기 위해 실험군은 4마리씩을 한 군으로 하여 Table 1과 같이 각각 3군으로 나누어(Group I, II, III) 실시하였으며 에탄올 투여에 따른 혈중 에탄올 농도는 GC를 이용하여 측정하였고 간기능 지수인 GOT(Glutamic Oxaloacetic Transaminase)와 GPT(Glutamic Pyruvic Transaminase)의 활성치는 Kit를 이용해 조사하였다. 또한 쑥 추출물이 간실질 세포에 미치는 효과를 조사하기 위해 간실질 세포를 분리한 후 배양실험을 실시하였다. 모든 실험결과와 평균값 및 표준오차는 SAS(Statistic Analytical System, USA) program을 사용하여 구하였고 duncan의 다중검정방법으로 5% 수준에서 유의성을 검증하였다.

Table 1. Experimental groups I, II, III

Groups	Strain	Treatment
I	CON-E	<sup>1</sup> Ethanol 0.85% saline sol'n
	MDW-E	Ethanol + 2% Water extracts of Mugwort
	MOH-E	Ethanol + 2% Ethanol extracts of Mugwort
II	CON-G	Ethanol 0.85% saline sol'n
	MDW-G	Ethanol + 2% Water extracts of Mugwort
	MOH-G	Ethanol + 2% Ethanol extracts of Mugwort
III	CON-L	Rat hepatocytes cultured in the <sup>2</sup> WE
	1% MDW-L	WE + 1% Water extracts of Mugwort
	2% MDW-L	WE + 2% Water extracts of Mugwort
	1% MOH-L	WE + 1% Ethanol extracts of Mugwort
	2% MOH-L	WE + 2% Ethanol extracts of Mugwort

<sup>1</sup>Ethanol : Orally administrated at the levels of 5g/kg with 25% ethanol concentration.

<sup>2</sup>WE : Williams' Medium E +  $\alpha$  (FBS, penicillin-streptomycin, aprotinin, insulin).

CON-E & CON-G : 0.85% saline sol'n treated with ethanol

MDW-E & MDW-G : 2% Water extracts of Mugwort treated to the CON-E & CON-G

MOH-E & MOH-G : 2% Ethanol extracts of Mugwort treated to the CON-E & CON-G

CON-L : Only cultured in the WE

1% MDW-L : 1% Water extracts of Mugwort treated to the CON-L

2% MDW-L : 2% Water extracts of Mugwort treated to the CON-L

1% MOH-L : 1% Ethanol extracts of Mugwort treated to the CON-L

2% MOH-L : 2% Ethanol extracts of Mugwort treated to the CON-L

Table 2. Analytical condition of HPLC

Instrument	Waters Delta prep 4000
Column	$\mu$ Bondapak C <sub>18</sub> , 3.9 × 300mm
Detector	Waters 486 uv, 280nm
Mobile phase	Acetic acid : Methanol : Acetonitrile : DDW (5 : 20 : 130 : 845)
Flow rate	1.0 ml/min

Table 3. Analytical condition of gas chromatography

Instrument	Hewlett Packard 5890
Detector	Flame Ionization Detector
Column	SPB-1, 30m × 0.32mm ID 1.0 μm film
Carrier gas	N <sub>2</sub>
Oven	Initial temp. 70°C Initial time 8min Initial rate 5°C/min Final temp. 160°C Final time 5min
Injector temp.	90°C
Detector temp.	220°C
Split ratio	100 : 1
Injection volume	1 μl injection
Chart speed	0.5cm/min

Table 4. Composition of perfusion

Component	Pre perfusion buffer (pH 7.2) g/l	Collagenase solution (pH 7.5) g/l
NaCl	8	8
KCl	0.4	0.4
CaCl <sub>2</sub>	-	0.56
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.078	0.078
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	0.151	0.151
HEPES	2.38	2.38
Phenol Red Na	0.006	0.006
Collagenase	-	0.5
Trypsin Inhibitor	-	0.05
EGTA	0.19	-
NaHCO <sub>3</sub>	0.35	0.35
Glucose	0.9	-

1) 쑥추출물의 카테킨 함량

쑥추출물의 카테킨 함량을 Iwasa와 Torri의 방법<sup>(20)</sup>을 변형하여 측정된 결과는 Table 5와 같다. 즉, 네 가지의 추출물 중에서 카테킨의 함량은 쑥의 열수추출물이 가장 많았다.

Table 5. Catechin) content of MDW, MOH

Sample	Tannin(catechin) (mg) / Material (100g or 100ml)
MDW	8 ~ 10
MOH	3 ~ 4

\* These data represent the means of 6 replicates.

MDW : Water extracts of Mugwort

MOH : Ethanol extracts of Mugwort

2) 쑥추출물의 주요 카테킨 성분의 조사와 크로마토그램

쑥의 추출물을 HPLC를 이용해 조사한 결과 각각의 추출물 중의 주요 카테킨 성분의 분포는 Table 6에 나타난 바와 같다. HPLC를 이용한 쑥추출물의 카테킨 성분의 조사는 카테킨 standard(栗田 株式会社, JAPAN) 크로마토그램(Fig. 1-A)의 retention time을 쑥의 추출물의 크로마토그램과 비교하여 구하였다 (Fig. 1-B, C). 각 성분을 비교한 결과 쑥의 열수추출물 및 에탄올추출물과 (-)-Epigallocatechin (EGC)의 함량이 가장 높았다. 또한 네 가지의 추출물 모두 (-)-Epicatechin gallate (ECg)가 없었으며 쑥 특유의 것으로 보이는 피크도 나타났다.

3) 혈중 에탄올 농도의 변화

시간에 따른 혈중 에탄올 농도를 알아보기 위해 GC를 이용하여 각각의 실험군의 시간별 에탄올 농도를 계산한 결과는 Table 7 및 Fig. 2와 같다. 에탄올을 투여한지 1시간 후의 에탄올 농도에서는 CON-E의 경우가 가장 높은 것으로 나타났고 MDW-E, MOH-E군 모두 CON-E에 비해 유의하게( $p < 0.05$ ) 낮은 값을 나타냈다. 또한 에탄올을 투여한지 2시간 후에도 1시간 후와 비슷한 양상을 나타내었는데 MDW-E 그리고 MOH-E 모두 CON-E에 비해 유의하게( $p < 0.05$ ) 감소하였다. 이는 쑥의 추출물이 에탄올 분해효능이 있다는 것을 시사한다.

Table 6. Composition of catechins in water extracts and ethanol extracts of Mugwort<sup>1)</sup>

Catechins	Water extracts of Mugwort (%)	Ethanol extracts of Mugwort (%)
(-)-Epigallocatechin gallate (EGCg)	28	13
(-)-Epigallocatechin (EGC)	49	45
(-)-Epicatechin gallate (ECg)	0	0
(-)-Epicatechin (EC)	0	16
Other catechins	23	26

<sup>1)</sup>Catechin components were analyzed by HPLC using catechin standards.

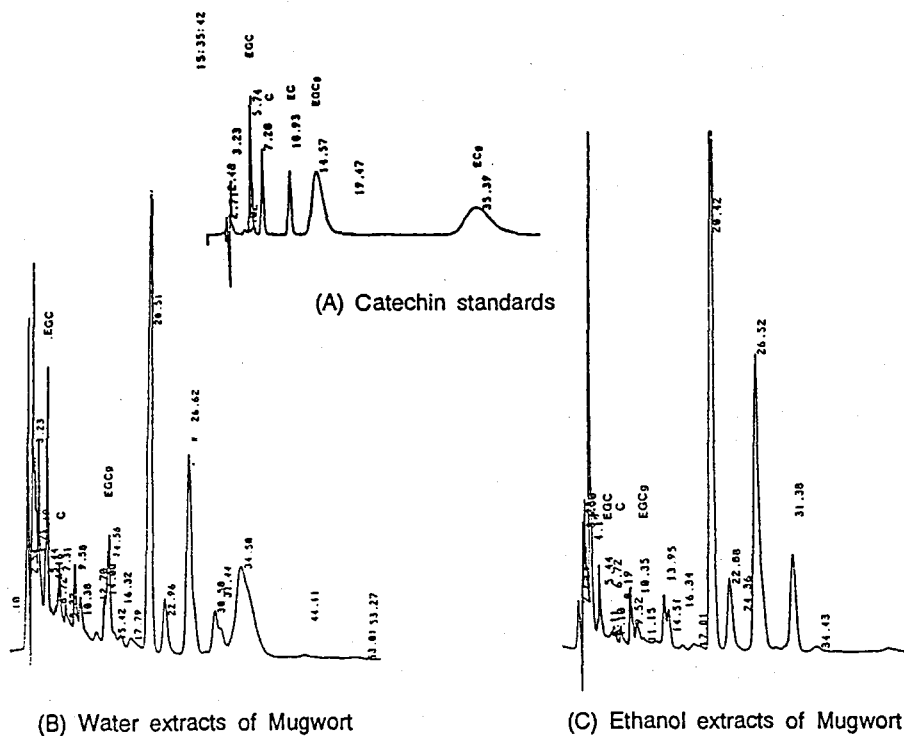


Fig. 1. Isolation of catechin and catechin derivatives by HPLC using catechin standards

EGCg : (-)-Epigallocatechin gallate

EGC : (-)-Epigallocatechin

ECg : (-)-Epicatechin gallate

EC : (-)-Epicatechin

C : Other catechins

Table 7. Ethanol concentration in plasma and body weight of SD rats

Sample	Body Weight (g)	<sup>1</sup> Ethanol concentration (%)			
		0hr	1hr	2hr	3hr
CON-E	<sup>2</sup> 290±2 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.082±0.008 <sup>a</sup>	0.056±0.011 <sup>a</sup>	0.012±0.011 <sup>a</sup>
MDW-E	290±5 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.041±0.002 <sup>o</sup>	0.008±0.006 <sup>o</sup>	0.001±0.001 <sup>a</sup>
MOH-E	286±9 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	0.034±0.015 <sup>o</sup>	0.015±0.012 <sup>o</sup>	0.004±0.006 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Ethanol was given orally at dose of 5g/kg-B.W. (25% ethanol).

<sup>2</sup> Mean±S.D. (n=4)

<sup>ab</sup>Within same column, means with different superscripts are significantly different (p<0.05).

CON-E : Control

MDW-E : Water extracts of Mugwort treated to the control

MOH-E : Ethanol extracts of Mugwort treated to the control



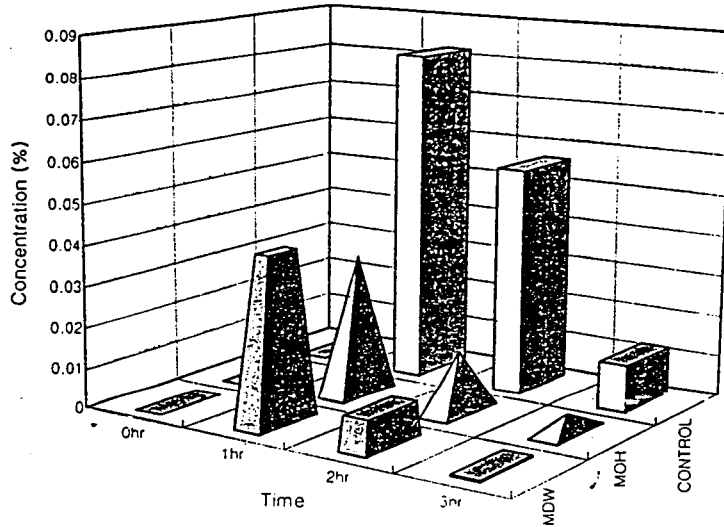


Fig. 2. Comparison of the effects of CON, MDW and MOH on the time course ethanol concentration in plasma of SD rats.

CON-E : Control

MDW-E : Water extracts of Mugwort treated to the control

MOH-E : Ethanol extracts of Mugwort treated to the control

Ethanol was given orally at dose of 5g/kg-B.W. (25% ethanol)

#### 4) GOT, GPT 농도의 변화

에탄올에 의한 간기능 저하 정도를 알아보기 위한 GOT, GPT의 시간별 혈중 농도는 Fig. 3에 나타내었다. 이 조사에서 추출물에 의한 각 실험군마다의 유의적인 차이는 보이지 않았다.

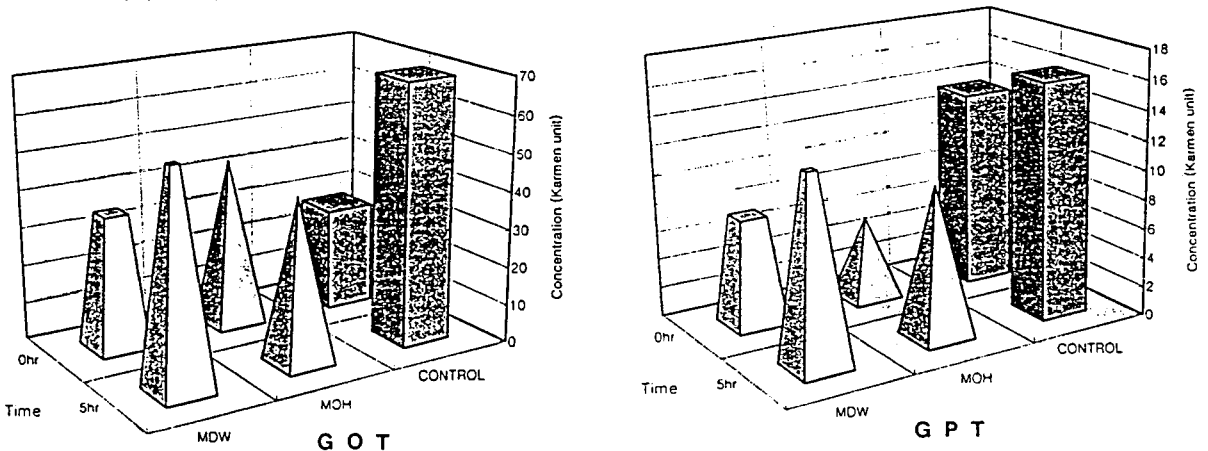


Fig. 3. Comparison of the effects of CON, MDW and MOH on the GOT, GPT concentration in plasma of SD rats.

CON-G : Control

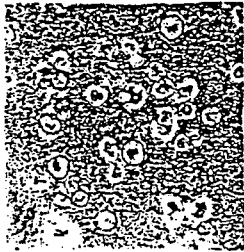
MDW-G : Water extracts of Mugwort treated to the control

MOH-G : Ethanol extracts of Mugwort treated to the control

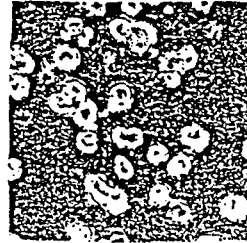
Ethanol was given orally at dose of 5g/kg-B.W. (25% ethanol)

5) 간실질세포의 형태학적 관찰

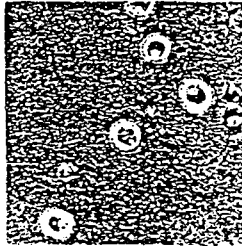
간실질세포를 *in vitro*에서 배양하며 시간에 따른 변화를 현미경으로 관찰한 결과는 실험군 별로 Fig. 4에 나타내었다. 현미경상에서 관찰을 할 때 12시간배양 후에는 각 군들끼리 세포수나 형태 면에서 볼 때 커다란 차이는 나오지 않았으나 24시간 배양 후부터는 기본배지에 배양한 CON-L 보다 쑥추출물을 처리한 군에서 세포수가 더 많이 나타났으며, 정상적인 형태를 유지했다. 또한 36시간 후 배양을 종결할 때에는 그 차이가 현저했는데 특히 쑥의 열수 추출물을 배지에 첨가한 MDW-L에서는 눈에 띄게 세포수가 증가하였다. 이처럼 쑥추출물중의 성분이 간실질 세포를 개선시키는 작용이 있는 것으로 사료한다.



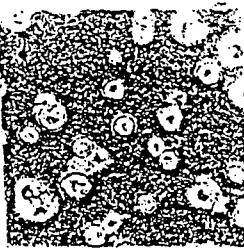
1% MDW-L



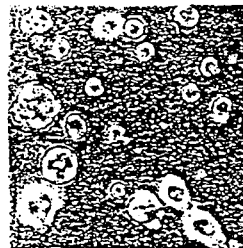
1% MOH-L



CON-L



2% MDW-L



2% MOH-L

Fig. 4. Rat hepatocytes cultured for 36hrs at 37°C in the CON-L, 1% MDW-L, 2% MDW-L, 1% MOH-L, 2% MOH-L ( $\times 100$ ).

CON-L : Cultured in the Williams' Medium E

1% MDW-L : 1% water extracts of Mugwort treated to the control

2% MDW-L : 2% water extracts of Mugwort treated to the control

1% MOH-L : 2% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

2% MOH-L : 2% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

6) 간실질세포의 생존 상태 조사

간실질세포 배양 실험이 끝난 36시간 후 배지를 걷어내고 밑면에 모인 세포를 모아 현미경으로 수를 측정하여 평균을 낸 결과는 Table 8과 같다. 배양 시작때 각 plate당 같은 양의 세포를 접종 하였으나 36시간 후 생존 또는 배양된 세포수는 2% MDW-L이 가장 많았으며 2% MOH-L을 제외 하고는 CON-L의 세포수가 가장 적었다. 이는 각 plate에 첨가된 쑥의 추출물이 간실질세포 배양 에 있어서 간세포 활성을 높여 주었다는 것을 나타낸다. 그리고 Table 9에서 나타난 바와 같이 배양 후 취한 세포내의 GOT, GPT의 활성치는 실험군간의 유의차가 나타나지는 않았다. 따라서 쑥추출물의 적정 농도의 첨가는 간세포의 성장활성에 효과가 있는 것으로 사료되었다.

Table 8. Number of cells of rat hepatocytes cultured for 36hrs at 37°C

Sample	Number of cells ( $\times 10^5$ cells/plate)
CON-L	2.67
1% MDW-L	3.86
2% MDW-L	4.17
1% MOH-L	3.18
2% MOH-L	2.57

\* These data represent the means of 2 plates.

CON-L : Cultured in the Williams' Medium E

1% MDW-L : 1% water extracts of Mugwort treated to the control

2% MDW-L : 2% water extracts of Mugwort treated to the control

1% MOH-L : 1% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

2% MOH-L : 2% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

Table 9. GOT and GPT concentration in rat hepatocytes

Sample	GOT concentration (karmen unit)	GPT concentration (karmen unit)
CON-L	13.9	23.9
1% MDW-L	13.0	30.6
2% MDW-L	19.6	34.6
1% MOH-L	18.4	31.8
2% MOH-L	15.2	22.2

\* These data represent the means of 2 plates.

CON-L : cultured in the Williams' Medium E

1% MDW-L : 1% water extracts of Mugwort treated to the control

2% MDW-L : 2% water extracts of Mugwort treated to the control

1% MOH-L : 1% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

2% MOH-L : 2% ethanol extracts of Mugwort treated to the control

## 2. 썩의 열수추출물이 카드뮴 독성에 미치는 영향

저농도의 Cd투여에 의한 독성과 그 독성완화에 대한 썩 열수추출물의 영향을 조사하고자 4주령의 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 구입하여 대조군(CON, 0.85% saline 10ml/kg B.W.)과 Cd단독투여군(CD, 0.4mg CdCl<sub>2</sub>/kg B.W.), Cd과 썩추출물을 복강내 투여한 군(IP, 썩 추출물은 일일사료섭취량의 1%수준) 그리고 썩추출물을 구강내 투여한 군(PO, 썩 추출물은 일일사료섭취량의 1%수준)으로 분류하여 4주간 사육하였다. 사육 후 각종 장기 및 혈액을 채취하여 장기에서의 GSH 농도, GSH-Px 및 GR의 활성과 혈장 GOT, GPT 활성을 측정하였고 더불어 각 조직에서 Cd축적량을 조사하였다.

### 1) 체중 증가량 및 장기의 무게

실험 4주간의 체중 증가량은 Table 10에서 보는 바와 같이 CD군이 가장 높았으며 썩 추출물 투여군은 대조군에 비하여 상대적으로 체중이 감소되었고 체중의 증가 경향은 Cd > CON > IP > PO군 순으로 나타났다.

Table 10. Effect of cadmium treatment on body weight gain of rat for 4 weeks

Group	Body weight(g)		Weight gain (g/day)
	initial	final	
CON	163.0±6.7	285.3±40.9	4.5±1.7
CD	166.0±15.4	292.3±19.0	4.7±0.9
IP	171.3±12.5	262.5±24.5	3.4±0.9
PO	167.0±11.9	257.2±40.9	3.3±1.2

Values present the mean±S.D. (n=6, PO n=5).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

또한 각 장기의 무게를 살펴볼 때 Table 11에서와 같이 PO군의 뇌에서만 유의적인 감소(p<0.05)가 나타난 것으로 보아 Cd에 의해서는 각 장기의 무게에 크게 영향을 미치지 않았지만 썩추출물이 체지방 저하작용이 있을 가능성이 시사되었다.

### 2) 조직 및 적혈구의 Cd 함량

적혈구 등 각 조직의 Cd 농도는 Table 12와 같다. 적혈구의 Cd 함량은 CD군에 비하여 IP군에서 유의적으로 감소(p<0.05)하였다. 간 및 신장의 Cd 함량을 볼 때 썩 추출물에 의한 Cd 축적의 억제효과가 나타나지 않았으며, 또한 고환에서는 IP군이 PO군에 비해 유의적으로 감소(p<0.05)하였다. 한편, 본 실험에서의 장기내 Cd축적량은 간과 신장에 많이 축적된 것으로 나타났다.

Table 11. Effect of experimental diet on weight of each organs in rats

(unit : g)

Group	Brain	Heart	Liver	Kidneys	Testis
CON	1.91 ± 0.12 <sup>aj</sup>	0.88 ± 0.14 <sup>aj</sup>	7.58 ± 1.11 <sup>aj</sup>	1.89 ± 0.16 <sup>aj</sup>	2.98 ± 1.34 <sup>aj</sup>
CD	1.96 ± 0.08 <sup>aj</sup>	0.86 ± 0.04 <sup>aj</sup>	7.85 ± 0.65 <sup>aj</sup>	1.98 ± 0.20 <sup>aj</sup>	3.04 ± 0.26 <sup>aj</sup>
IP	1.83 ± 0.10 <sup>aj</sup>	0.82 ± 0.09 <sup>aj</sup>	7.29 ± 0.98 <sup>aj</sup>	1.77 ± 0.21 <sup>aj</sup>	3.10 ± 0.25 <sup>aj</sup>
PO	1.78 ± 0.07 <sup>aj</sup>	0.74 ± 0.12 <sup>aj</sup>	6.84 ± 1.21 <sup>aj</sup>	1.75 ± 0.27 <sup>aj</sup>	3.00 ± 0.28 <sup>aj</sup>

Values present the mean ± S.D. (n=5~6)

<sup>a, b)</sup> Within same column, mean with different superscripts are significantly different (p<0.05).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

Table 12. Cadmium concentration in various tissues

(unit : µg/g)

Group	Liver	Kidney	Testis	RBC
CON	-	-	-	-
Cd	177.9 ± 11.4 <sup>aj</sup>	75.2 ± 12.6 <sup>aj</sup>	2.32 ± 0.15 <sup>aj</sup>	1.15 ± 0.06 <sup>aj</sup>
IP	177.1 ± 20.8 <sup>aj</sup>	70.8 ± 13.6 <sup>aj</sup>	2.06 ± 0.27 <sup>aj</sup>	0.89 ± 0.13 <sup>aj</sup>
PO	189.4 ± 8.5 <sup>aj</sup>	83.8 ± 4.9 <sup>aj</sup>	2.39 ± 0.15 <sup>aj</sup>	1.08 ± 0.11 <sup>aj</sup>

Values present the mean ± S.D. (n=5~6).

<sup>a, b)</sup> Within same column, mean with different superscripts are significantly different (p<0.05).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

RBC : Red blood cell

### 3) GSH 농도의 변화

조직중의 GSH 농도 측정 결과는 Fig. 5와 같다. 간 조직중의 GSH농도는 CD군에 비하여 대조군과 실험군을 투여군에서 유의적으로 증가(p<0.05)하여 대조군 수준과 같은 결과를 나타내었다. 신장에서는 대조군에 비해 CD군이 유의적으로 감소(p<0.05)하였고, 고환에서는 실험군을 투여한 군에서 유의적으로 감소(p<0.05)하였다. GSH는 GSH-Px와 GR활성에 의하여 생체의 산화적 손상에 대한 방어역할을 하고, GSH의 구성 아미노산중 시스테인의 치환기는 Cd와의 결합력이 강하여 Cd독성을 경감시키는 작용이 있다. 따라서, 실험군의 Cd에 의한 간손상 억제에는 실험군의 구성 성분인 카테킨을 비롯한 플라보노이드류의 종류와 관련되어 있는 것으로 사료되어진다.

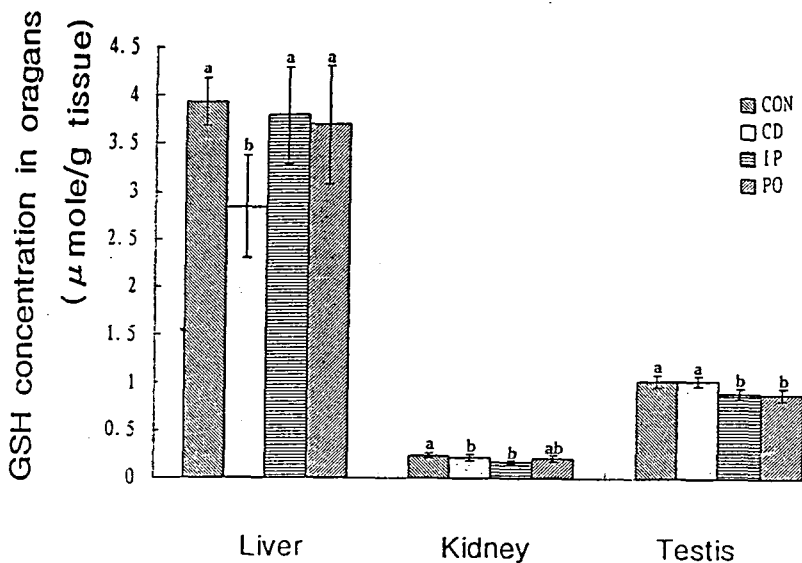


Fig. 5. The changes of the level of GSH in tissues.

Values present the mean  $\pm$  S.D. (n=5~6).

Mean with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>b</sup>)Superscripts which have different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

#### 4) GSH-Px와 GR 활성 변화

조직에서의 GSH-Px 활성도의 결과는 Table 13에 나타내었다. 간과 신장에 있어서 대조군과 실험군간의 통계학적 유의성은 나타나지 않았지만, 간에서 IP군이 CD군에 비해 높게 나타났고, 고환에서는 PO군이 나머지 군에 비하여 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )하였다. GR활성의 변화 결과는 Table 14와 같다. 간에서는 CON군과 CD군 사이에 유의적인 차이가 나타난 반면 신장에서는 대조군과 실험군 사이에 통계학적 유의성은 없었고, 고환에서는 PO군이 다른 군과 비교할 때 유의적으로 증가( $p < 0.05$ )하였다. GR은 GSH-Px에 의해 산화된 GSH를 신속하게 환원시켜 산화환원을 원활하게 해줌으로써 생체 이물질의 독성을 경감시키는 작용이 있다. 따라서, 쑥추출물이 Cd와 GR의 작용을 저해시켜 GR의 기능인 환원능력이 상승됨으로써 결국 이러한 연쇄반응을 통해 간의 GSH농도가 정상수준으로 회복된 것으로 사료된다.

5) GOT, GPT 활성의 변화

각 실험군의 혈장 GOT, GPT 활성의 변화는 Fig. 6에 나타내었다. GPT의 경우 대조군과 각 실험군간에 유의적인 차가 나타나지 않았지만 CD군에 비해 IP군과 PO군이 약간의 감소를 나타내었다. GOT의 활성은 대조군에 비해 각 실험군들이 유의적으로(p<0.05) 증가하였으나, IP군은 CD군에 비해 유의적으로 감소(p<0.05)하였다. 본 실험결과에서는 IP군은 Cd투여로 인해 상승한 GOT 활성을 유의적으로 감소된 것으로 나타나(Fig. 5) Cd투여에 따른 간 조직의 손상은 썩의 열수추출물을 공급함으로써 감소되었다고 사료된다.

Table 13. Effect of Cd on glutathione peroxidase(GSH-Px) activity in Cd-treated rats  
(unit : mU/mg protein)

Group	Liver	Kidney	Testis	Plasma
CON	619.9±146.3 <sup>3j</sup>	298.6±89.8 <sup>3j</sup>	101.6±12.6 <sup>3j</sup>	37.7±8.5 <sup>3j</sup>
CD	472.8±141.2 <sup>2j</sup>	246.0±66.8 <sup>3j</sup>	103.7±3.1 <sup>3j</sup>	36.4±6.2 <sup>20j</sup>
IP	594.2±92.9 <sup>3j</sup>	305.0±63.1 <sup>3j</sup>	109.1±10.4 <sup>3j</sup>	28.5±5.3 <sup>20j</sup>
PO	476.5±42.8 <sup>3j</sup>	323.0±85.1 <sup>3j</sup>	122.9±16.9 <sup>3j</sup>	27.1±11.1 <sup>3j</sup>

Values present the mean±S.D. (n=5, IP n=6 ; Plasma n=6, PO n=5).

<sup>a,b)</sup>Within the same column, mean with different superscripts are significantly different (p<0.05).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

Table 14. Effect of Cd on glutathione reductase(GR) activity in Cd-treated rats  
(unit : mU/mg protein)

Group	Liver	Kidney	Testis
CON	75.6±2.7 <sup>3j</sup>	149.4±15.9 <sup>3j</sup>	18.0±1.3 <sup>3j</sup>
CD	64.7±9.7 <sup>2j</sup>	129.1±12.8 <sup>3j</sup>	17.5±1.5 <sup>3j</sup>
IP	68.7±3.8 <sup>20j</sup>	171.0±44.8 <sup>3j</sup>	18.8±1.8 <sup>3j</sup>
PO	62.9±8.0 <sup>2j</sup>	163.4±40.9 <sup>3j</sup>	22.2±2.5 <sup>3j</sup>

Values present the mean±S.D. (n=5, IP n=6).

<sup>a,b)</sup>Within the same column, mean with different superscripts are significantly different (p<0.05).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

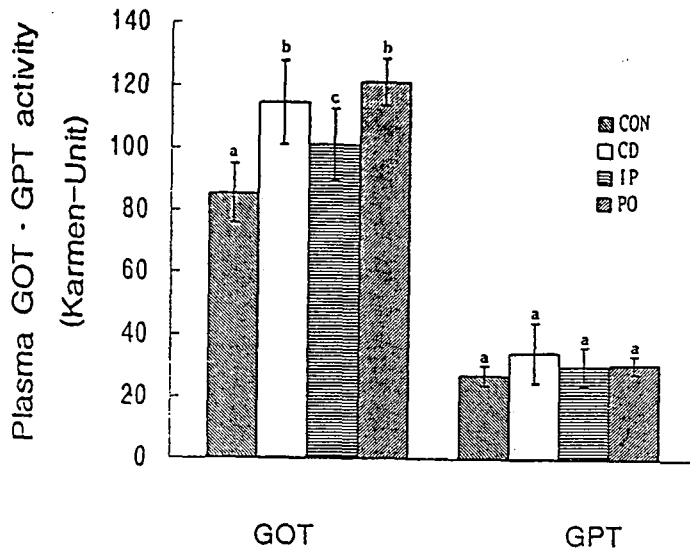


Fig. 6. The effect of MDW on plasma GOT and GPT activities of Cd treated rats.

Values present the mean±S.D. (n=5~6).

a, b, c) Superscripts which have different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ).

CON : 10 mL/ 0.85% saline/kg b.w., p.o.

CD : CdCl<sub>2</sub> 0.4 mg/5 mL/kg b.w., i.p.

IP : 1% MDW treated to the CD 5 mL/kg b.w., i.p.

PO : 1% MDW treated to the CD 10 mL/kg b.w., p.o.

MDW : Mugwort-water extracts

## 요 약

본 연구는 쑥의 추출물을 이용해 생체내에서 에탄올의 분해효능, 간기능 및 Cd 독성 저하작용에 미치는 효과를 알아보기 위하여 실시하였다. 본 실험에서 에탄올 분해효능은 Rat 1kg 당 25% 에탄올 5g을 경구투여한 후 쑥추출물의 카테킨 농도를 측정하여 이를 기준으로 일일 사료섭취량의 2% 원료수준으로 각각 미정맥주사를 하였다. 에탄올만 경구투여한 대조군과 에탄올을 경구투여한 후 쑥추출물을 미정맥주사한 실험군은 시간별(0, 1, 2, 3시간)로 미정맥계서 혈액을 채취해 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 혈장을 분리한 후 GC(Gas Chromatography)로 혈중 에탄올 농도를 측정하였다. 또한 같은 방법으로 시간만 달리해 (0시간, 5시간) 혈장을 취해 GOT, GPT의 활성치를 측정하여 간손상정도를 측정하였다. 간기능에 미치는 효과는 간실질세포를 기본배지에 배양한 대조군과 쑥추출물을 배지의 1% 및 2% 원료수준으로 기본배지에 첨가하여 간실질세포를 배양한 실험군으로 나누어 36시간 배양한 후 현미경으로 형태를 관찰하고 생존 세포수와 GOT, GPT의 활성치를 함께 측정하였다. Cd 독성 저하작용은 4주령의 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 구입하여 대조군(CON, 0.85% saline 10ml/kg B.W.)과 Cd단독 투여군(CD, 0.4mg CdCl<sub>2</sub>/kg B.W.), Cd과 쑥추출물을 복강내 투여한 군(IP, 쑥 추출물은 일일사료섭취량의 1%수준) 그리고 쑥추출물을 구강내 투여한 군(PO, 쑥 추출물은 일일사료섭취량의 1%수준)으로 분류하여 4주간 사육하였



다. 사육 후 각종 장기 및 혈액을 채취하여 장기에서의 GSH 농도, GSH-Px 및 GR의 활성과 혈장 GOT, GPT 활성을 측정하였고 더불어 각 조직에서 Cd축적량을 조사하였다. 실험결과를 요약하면 다음과 같다.

(1) 썩추출물의 카테킨의 함량을 Iwasa와 Torri의 방법을 변형하여 측정한 결과 네 가지의 추출물 중에서 카테킨의 함량은 썩의 열수추출물이 8~10mg/100g으로 가장 많았으며 썩의 에탄올 추출물은 3~4mg/100g인 것으로 나타났다.

(2) 썩의 추출물을 HPLC를 이용해 주요 카테킨의 성분을 비교한 결과 썩의 열수추출물 및 에탄올추출물은 (-)-Epigallocatechin (EGC)의 함량이 가장 높았다.

(3) 시간에 따른 혈중 에탄올 농도를 GC로 측정한 결과 각각 에탄올을 투여한지 1시간 후의 에탄올 농도에서는 CON-E의 경우가 가장 높은 것으로 나타났고 MDW-E, MOH-E군은 CON-E에 비해 유의하게( $p<0.05$ ) 감소하는 것을 알 수 있었다.

(4) 간실질세포를 배양하여 시간에 따른 변화를 현미경으로 관찰한 결과 12시간 배양 후에는 각 군들끼리 세포수나 형태면에서 볼때 커다란 차이는 없었으나 24시간 배양 후부터는 CON-L보다 썩추출물을 처리한 군들에서 더 많은 세포수를 보였으며 세포의 모양도 잘 유지됨을 알 수 있었다. 또한 36시간 배양 후 MDW-L에서는 눈에 띄게 세포수가 증가하였다.

(5) 간실질세포 배양 36시간 후 배지를 걷어내고 밑면에 모인 세포를 모아 현미경으로 수를 측정하여 평균을 낸 결과는 2% MDW-L가 가장 많았으며 2% MOH-L을 제외하고는 CON-L의 세포수가 가장 적었다. 또한 배양 후 취한 세포내의 GOT, GPT의 활성치는 실험군간의 유의한 차이는 없었다.

(6) 간 조직중의 GSH 함량수준은 썩추출물 투여군들(IP, PO)이 CD군에 비해 유의적으로 증가( $p<0.05$ )하여 대조군과 같은 정상수준으로 되었다.

(7) 간과 신장에서의 GSH-Px 활성은 저농도의 Cd에 의해서는 영향을 받지 않은 것으로 나타났다.

(8) 혈장 GOT활성은 IP군이 대조군에 비해 증가하였으나 CD군에 비해 유의적으로 감소( $p<0.05$ )하였다.

이상의 결과에서 썩추출물이 체내에서 에탄올 분해를 촉진시키고 간기능을 개선시키는 물론 GSH농도의 정상회복과 GR의 증가 및 혈장에서의 GOT활성의 감소 등으로 보아 Cd의 간독성도 감소시키는 작용이 있는 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. 허 준 : 한방동의보감. 민정사. P.184 (1978)
2. 이민재 : 약용식물학. 동명사. P.287 (1965)
3. Matsuzaki, T., and Hara, Y.: Antioxidative activity of tea leaf catechins. Nippon Nogeikagaku Kaishi. 59(2). (1985)
4. Graham HN. Green tea composition, consumption and polyphenol chemistry. Prev. Med. 21(3), 334~350 (1992)
5. 菅沼雅美, 藤木博太 : EGCG によるヒト癌の化学豫防. 日本農藝 化学會誌. 67(1), 35~38 (1993)

6. 이주원, 신호선 : 녹차 물 추출물의 항산화 효과. 식품과학회지. 25(6), 759-763 (1993).
7. Das, D. N. : Effect of tea and its tannins upon capillary resistance of guinea-pigs. *Ann. Biochem. Exp. Med.*, 23, 219-222 (1963)
8. Okuda, T., Kimura, Y., Yosida, T., Hatano, T., Okuda, H. and Arichi, S. : Studies on the activities of tannins and elated compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation on mitochondoria and microsomes of liver. *Chem. Pharm. Bull.*, 31, 1625-1631 (1983)
9. Hatano, T., Yosida, T., Fujita, Y., Okuda, T., Kimura, Y., Okuda, H., and Arichi, S. : Effect of tannins of wakan-yaku on lipid peroxidation and fat cells. *Wakan-Yaku Gakkashi* (in Japanese), 1, 40-41 (1984)
10. Okuda, T., Mori, K., and Hayatsu, H. : Inhibitory effects tannins on directacting mutagens. *Chem. Pharm. Bull.*, 32, 3755-3758 (1984)
11. Kada, T., Kaneco, K., Matsuzaki, T., and Hara, Y. : Detection and chemical identification of natural bio antimuta- gens. A case of the green tea factor. *Mutation Res.*, 150, 127-132 (1985)
12. Hikino, H., Kiso, Y., Hatano, T., Yisida, T., and Okuda, T. : Antihepatotoxic actions of tannins. *J. Ethanopharmacol.*, 14, 19-29 (1985)
13. 김일혁 : Artemisia속 정유성분의 항암작용에 관한 연구조사 (1). 중앙대학교 논문집, 12, 459 (1967)
14. 허인옥, 이성동, 황우익 : 쑥가루 첨가급식에 의한 백서의 영양 효과에 관한 연구. 한국영양 식량학회지, 14, 123 (1985)
15. 김미혜, 이성동, 류충근 : 쑥의 수용성추출성분이 백서 영양에 미치는 영향. 한국영양식량학 회지, 14, 131 (1985)
16. Muller, L. and Stacey, N.H. : Effect of low-level cadmium in rats: Influence of pretreatment with thiol-modulation agents. *Environmental Research*, 45, 204-212 (1988)
17. Koizumi, T. and Li, Z.G. : Role of oxidative stress in single-dose, cadmium-induced testicular cancer. *J. Toxicol. Environ. Health*, 37, 25-36 (1992)
18. Sharm, G., Nath, R. and Gill, K.D. : Effect of ethanol on cadmium-induced lipid peroxidationand antioxidant enzyme in rat liver. *Biochem. Pharmacol.*, 42(Suppl), S9-S16 (1991)
19. Laurie, D., Deleve and kaplitz, N. : Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmac. Ther.*, 52, 287-305 (1991)
20. Iwasa, K. and Torri, H. : A colorimetric determination of tea tannins with ferrous tartrate. *chagyo kenkyu Houkoku* (in Japanese), 19, 104-108 (1962)