

일차배양 간세포에서 t-Butyl hydroperoxide에 의해 유발된 산화적 스트레스에 대한 길경 열수 추출물의 보호효과

최철용 · 이경진* · 정혜광***

조선대학교 약학대학 약학과, *전남대학교 생물학과, **단백질 소재연구소

(Received October 17, 2002; Revised November 4, 2002)

Effects of Aqueous Extract Isolated from *Platycodon grandiflorum* Against t-Butyl hydroperoxide-induced Oxidative Stress in Rat Primary Hepatocytes

ChulYung Choi, KyungJin Lee* and HyeGwang Jeong***

Department of Pharmacy and **Research Center for Proteinous Materials, Chosun University, Kwangju, Korea

*Department of Biology, Chonnam National University, Kwangju, Korea

Abstract — Oxidative stress is considered to be associated with many diseases, such as inflammatory and cardiovascular diseases, aging and cancer. An important etiological mechanism of these diseases may be a causal relationship between the presence of oxidants and the generation of lipid hydroperoxides derived from enzymatic reactions or xenobiotic metabolism. The hydroperoxides can be decomposed to alkoxy- (RO·) and peroxy- (ROO·) free radicals that can oxidize other cell components, resulting in changes in enzyme activity or the generation of mediators, which can cause further cell damage. The aim of this study was to evaluate the ability of aqueous extract from the roots of *Platycodon grandiflorum* A. DC (Campanulaceae), Changkil (CK), to affect cellular response in primary cultures of rat hepatocytes to t-butyl hydroperoxide (t-BHP) induced oxidative stress and hepatotoxicity. CK-treated cells showed an increased resistance to oxidative challenge, as revealed by a higher percent of survival capacity in respect to control cells. CK reduced t-BHP-enhanced lipid peroxidation measured as production of malondialdehyde and enhanced intracellular reduced glutathione depletion by t-BHP. Furthermore, CK protected from the t-BHP-induced intracellular generation of reactive oxygen species assessed by monitoring dichlorodihydrofluorescein fluorescence. It can be concluded that CK exerts an antioxidant action inside the cell, responsible for the observed modulation of the cellular response to oxidative challenge, and CK have a marked antioxidant and hepatoprotective potency.

Keywords □ t-butyl hydroperoxide, *Platycodon grandiflorum*, antioxidant, hepatocytes

길경 (桔梗, *Platycodi radix*)은 초롱꽃과 (Campanulaceae)에 속하는 다년생초인 도라지 (*Platycodon grandiflorum* A. D. Candolle)의 뿌리 부분으로서 한국, 일본 및 중국의 산간지방에서 널리 자생하며, triterpenoid계 saponin과 당질, 섬유질을 함유하고 있어 한방에서 약재로 사용되고 있을 뿐만 아니라, 방약합편에 49건, 동의보감에 287건이 수록되어 있을 정도로 유용한 생약재로서, 예부터 약용보다는 식용으로 더 많이 이용되어 왔다.^{1,2)} 길경의 기초 약리작용에 관한 연구로는 Igarashi³⁾의 거담작용 연구 및 중추신경 억제작용 (진정, 진통, 해열효과), 급만성염증에 대한 강력한 항염증 작용, 항궤양 치료 및 위액 분비 억

제작용, 항 choline성 작용, 용혈작용이 확인되었다.⁴⁾ 또한 길경의 호흡순환기계 (거담작용) 개선 및 혈관확장효과⁵⁾와 곰팡이의 독소 생성능 감소효과가 보고되어 있으며,⁶⁾ Kubo 등⁷⁾은 길경 분획물의 식균작용 촉진효과를 보고하였으며, Nagao 등⁸⁾은 길경의 이눌린 성분이 생쥐의 복수암에 대해 강력한 항암활성이 있음을 보고하였다. 길경에 대한 이러한 연구는 뿌리가 썩어버리는 특성 때문에 대부분 2~3년근이 주로 이용되었으나, 최근 21년근 이상된 길경 (다년생 길경)의 재배기술 (대한민국 특허 제 045791호)이 개발되어 이에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 최근 연구되기 시작한 다년생 길경 열수 추출물 (Changkil; CK)에 대한 연구로 본 연구자들은 간독성 유발물질의 대사활성에 관련된 cytochrome P450 (P450) 약물대사 효소활성도 변화에 의한, carbon tetrachloride⁹⁾ 및 acetaminophen¹⁰⁾에 의한 간 손상에 대한 다년생 길경 열수 추출물의 보호작용을 보고하였으며,

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) (062) 230-6639 (팩스) (062) 230-6639
(E-mail) hgjeong@chosun.ac.kr

다년생 길경 열수 추출물이 복강거식세포 활성화와 면역활성을 증가시키는 것을 본 연구자에 의해 밝혀진바 있다.^{11,12)}

산화적 스트레스에 의한 반응성 유해 산소종 (reactive oxygen species; ROS)의 생성은 간염유화,¹³⁾ 신장염,¹⁴⁾ 피부질환,¹⁵⁾ 당뇨병¹⁶⁾ 등의 여러 가지 질환의 원인이 될 수 있으며, 특히, free radical (NO^\cdot , OH^\cdot , O_2^\cdot)은 분자상 산소가 활성산소로 변하여 다른 분자들과 반응하면서 생성되어 노화, 염증, 발암, 동맥경화¹⁷⁾와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 불포화 지방산이 풍부한 세포막은 생성된 free radical에 의해서 지질과산화의 표적이 되어 세포소기관들이 정상적인 구조 및 기능을 잃게 되며, 국소적인 손상은 물론 알데하이드와 같은 지질과산화 분해산물이 생성부위에서 멀리 떨어진 부위로 이동하여 세포손상을 일으키게 된다.¹⁸⁾ 이러한 지질과산화를 일으키는 대표적인 물질인 t-butyl hydroperoxide (t-BHP)는 간세포에서 cytochrome P-450 효소에 의해 세포 구성물들을 산화시킬 수 있는 alkoxy- (RO \cdot)나 peroxy (ROO \cdot)로 분해되며, 이러한 산물들이 DNA의 손상을 가지와 결국 세포를 죽이는 결과를 초래한다.¹⁹⁾ 또한 t-BHP는 간세포에서 ALT, AST, LDH 유리, malondialdehyde (MDA) 형성 및 glutathione (GSH)의 결손을 초래한다고 보고되었다.²⁰⁾ 이에 본 연구에서는 다년생 길경의 t-BHP에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 간 세포 보호효과를 확인하기 위해 간 손상 시 생성되는 효소인 ALT, LDH, 지질과산화 정도를 나타내는 MDA, free radical 생성의 억제 및 생성된 free radical을 제거하는데 필요한 GSH의 양 등을 측정하였으며, 그 작용기전을 규명하고자 다년생 길경의 항산화 효과를 조사하였다.

실험방법

실험재료 - 본 실험에서 사용한 다년생 길경 (Changkil; CK)은 경남 진주시 소재 (주)장생도라지로부터 수확 후 7일 이내의 것을 구입하였다. 건조된 장생 도라지 생체 100 g을 증류수 1 liter에 넣고 3시간 동안 환류추출 한 후 마포를 사용하여 여과하였다. 여과액은 Kim 등의 연구²¹⁾에 따라, rotary evaporator에서 100 m μ m으로 농축 후 즉시 동결건조하여 실험에 사용하였다.

실험동물 - 생후 6-8주 된 약 150 g의 SPF (Specific Pathogenic Free) Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷을 다물사이언스 (대전)에서 구입하여 실험동물로 사용하였다. 사료와 물은 자유롭게 먹게 하며, 사육실의 온도는 21-24°C, 상대 습도는 40-60%로 유지하였다. 또한 사육실의 밤과 낮이 12시간마다 반복되도록 조절하고 사육실내로 외부 오염물질이 침입하지 않도록 Hepa-filter를 이용하였다.

Free radical 소거 작용-DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil)는 분자내 radical을 함유하고 있는데 이것이 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만든다. 이러한 DPPH의 작용은

hydroxyl radical과 유사하여 free radical 소거 실험에 활용된다. 본 실험은 60 μ M의 DPPH 2 ml에 다년생 길경을 농도별로 처리한 다음 1분간 잘 섞고, 10분 후에 520 nm에서 측정하였다.

Superoxide 소거 작용 - Xanthine (100 μ M)과 xanthine oxidase (0.02 U)를 처리해 생성된 superoxide에 대한 다년생 길경의 소거능을 알아보기 위하여 0.1 M potassium-phosphate buffer (pH 7.4)에 다양한 농도의 다년생 길경을 처리하였다. 처리 후 nitroblue tetrazolium (100 μ M)을 기질로 사용하여 다년생 길경의 superoxide 활성도를 측정하였다.

간세포의 분리 및 배양-간세포는 Dickins와 Peterson의 방법²²⁾에 따라 collagenase perfusion 방법으로 분리하였다. Perfusion 완충용액으로는 Hank's balanced solution (HBSS)을 사용하였다. 100 mg의 collagenase를 perfusion 완충용액에 녹여서 간세포로 환류 시킴으로써 간을 완전히 녹였다. 녹인 간을 50 ml의 perfusion 완충용액이 든 용기에 옮겨 간의 capsule에서 간세포를 유리시킨 뒤에 간세포 현탁액을 250 μ m의 pore size를 갖는 nylon mesh를 통과 시켜서 단일 세포를 얻었다. 이렇게 얻은 여과액을 멸균된 tube에 옮겨서 50 \times 에서 4분간 3회 원심분리하여 간 실질 세포만을 얻었고, 최종적으로 단일세포를 배양용 배지 (Williams' E)에 현탁시켰다. 세포농도는 1.0 \times 10⁶ 세포수/ml이 되도록 조정하고 vitrogen 100 (Collagen corp., U.S.A.)이 precoating된 조직배양용 용기에 세포를 넣고 배양하였다. 간세포는 37°C의 humidified 5% CO₂/95% air incubator (Forma Scientific Co.)에서 배양하였고, 배양시작 후 3-4시간 후에 새로운 배지로 교환하여 배양용기 바닥에 부착되지 않은 세포를 제거하여 주었다. 새로운 배지로 교환한 다음 24시간 후에 다시 새로운 배지로 교환하면서 시료를 처리하였다.

MTT Assay를 이용한 세포독성 측정 - 간세포를 96-well microtiter plate에 세포농도 5 \times 10⁶ cells/ml로 조절하여 100 μ l씩 well에 넣은 다음 다년생 길경 및 t-BHP를 농도별로 처리한 다음 1시간 배양하였다. 배양액을 교환한 후 MTT labeling reagent에 electron coupling reagent를 첨가하여 준비한 MTT labeling mixture를 각 well당 10 μ l씩 (최종농도 0.5 mg/ml) 4시간 처리한 후 550 nm 파장에서 흡광도를 이용하여 다년생 길경 자체의 세포독성을 조사하였다.

배양액내 alanine aminotransferase (ALT) 활성도 측정 - 간세포 손상시 배양액으로 유리되어 나오는 ALT의 양을 측정함으로써 간세포 손상 여부를 확인할 수 있다. ALT의 양은 Reitman-Frankel 방법에 준하여 측정하였다.²³⁾ t-BHP 처리후 1시간 후에 배양액을 ALT의 기질액과 37°C에서 30분 동안 반응시켜 pyruvate를 생성시킨 후, 발색액을 넣고, 20분 후 0.4N-NaOH를 섞어서 동정색의 발색이 되면 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

배양액 내 Lactate dehydrogenase (LDH) 측정 - 실험에 이

용한 다년생 길경의 간세포 손상에 대한 영향을 조사하기 위하여 배지내의 LDH 활성을 측정하였다. LDH 활성은 기질 pyruvate가 lactate로 감소되는 정도를 조사하여 측정하였다. 이 감소는 reduced NADH가 산화되고, 340 nm에서 최대 흡광도를 나타낸다. 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 2.7 ml을 cuvette에 넣고 0.1 ml culture media를 첨가하고, 0.02 M sodium pyruvate 0.1 ml을 넣은 후, NADH (0.2 mg) 0.1 ml을 첨가하여 잘 섞어준 후 340 nm 흡광도에서 2분 동안 흡광도를 측정하였다.

지질과산화 수준 측정 - 다년생 길경을 1시간 전 처리한 후 t-BHP을 0.25 mM 농도로 1시간 동안 처리하였다. 배양액을 버리고, ice-cold PBS로 두차례 세척한 후 rubber policeman으로 긁어모아서 homogenizer로 균질화하였다. 지질과산화 (lipid peroxidation)의 지표로서 MDA의 양을 측정하였다. 수합한 세포를 0.5 ml 취해 0.37% (w/v) TBA (2-thiobarbituric acid), 15% (w/v) TCA (trichloroacetic acid)이 포함된 0.25 M HCl 용액을 첨가하여 80°C로 15분간 가열하고, 동량의 부탄올을 첨가한 후 4000 g로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 취해 530 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

간 세포 내 ROS 측정 - 간 세포 내 ROS의 양은 형광 probe인 DCF-DA를 사용하여 측정하였다. 배양액에 DCF-DA (2',7'-dichlorofluorescein diacetate)를 well당 25 µM로 처리하여 15분간 배양한 후 다년생 길경과 세포 내 ROS를 유발시키는 t-BHP (0.25 mM)를 처리하였다. 반응 후 형성된 세포내 과산화물은 excitation 파장 485 nm, emission 파장 530 nm에서 fluorescence를 측정하였다.

Glutathion (GSH) 함량 측정 - 다년생 길경을 1시간 전 처리한 후 t-BHP을 0.25 mM 농도로 1시간 동안 처리하였다. O-phthalaldehyde를 3.725 mM을 처리한 다음 실온에서 20분 동안 방치 후 excitation 파장 320 nm, emission 파장 426 nm에서 fluorescence를 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험 결과들은 mean ± SE로 나타냈고, 통계 처리는 Student's t-test를 실시하여 p < 0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험 결과

다년생 길경의 Free radical 및 Superoxide 소거 능력

간장 보호 효과의 기전들에서 다년생 길경 (CK)의 항산화 효과를 알아보기 위해 free radical 및 superoxide 소거능에 대해 조사하였다. 그 결과 Table I에 나타낸 것처럼 다년생 길경 투여 농도 의존적으로 free radical 및 superoxide 소거작용을 나타냈다. 다년생 길경을 1, 5, 10, 50 µg/ml의 농도로 처리한 경우 각 DPPH radical 소거능은 8.8%, 22.1%, 44.7%, 75.7%로 나타났

Table I - Inhibitory effects of CK on DPPH radical and superoxide scavenging activity

Does (µg/ml)	% of DPPH bleaching	% of inhibition (XO)
CK 1	8.83 ± 2.64	4.48 ± 3.24
CK 5	22.11 ± 2.29	16.19 ± 4.41
CK 10	47.48 ± 2.67*	59.64 ± 4.33*
CK 50	75.66 ± 2.78*	88.87 ± 5.48*

values are presented as the mean of the percentage inhibition ± S.D. for three independent experiments, performed in triplicate. % of DPPH bleaching=(absorbance of control group- absorbance of the crude extract added group)/absorbance of control × 100%. % of inhibition (XO)=(absorbance of control group- absorbance of the crude extract added group)/absorbance of control × 100%. Each value was expressed as mean percentage ± S.E. of control cultures of three determinations. *Significantly different from the t-BHP-treated control at P < 0.05.

으며, Superoxide 경우는 4.5%, 16.2%, 59.6%, 88.7%로 나타났으며, IC₅₀을 보면 다년생 길경의 항산화 효과의 경우 free radical은 15 µg/ml, superoxide는 8.5 µg/ml의 소거능을 보였다.

t-BHP에 유도된 일차배양 간세포 독성에 대한 다년생 길경의 보호 작용

t-BHP에 의해 산화적 스트레스가 유도된 일차배양 간세포에 비해 다년생 길경을 전처리 한 간세포에서 다년생 길경을 처리한 농도에 비례하여 배양액으로 유리되는 ALT 효소 및 LDH 효소의 양이 감소하였다 (Fig. 1). 그러나, 다년생 길경만을 처리한 다음 6시간 후 MTT 방법을 통하여 세포독성을 조사한 결과 100 µg/ml의 농도에서도 아무런 독성을 보이지 않았으며, t-

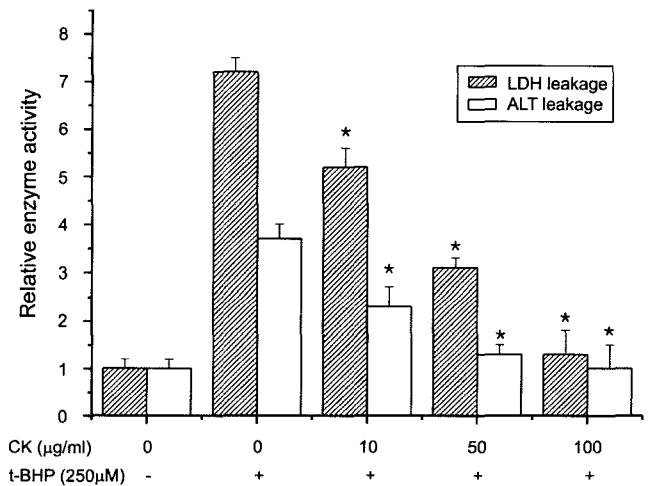


Fig. 1 - Effects of CK on leakage of the alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase. Hepatocytes were exposed to CK (0, 10, 50, and 100 µg/ml) for 1 h with t-BHP (250 µM). Alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH) activities were determined. Each value represents mean ± S.E. of three independent experiments carried out in triplicate. *Significantly different from the t-BHP-treated control at P < 0.05.

Table II – The cytotoxicities of t-BHP and CK (Chang kil) by MTT assay

Treatment	OD ^{570 nm}	% of control (absorbance)
control	0.82 ± 0.03	100
t-BHP (0.1 mM)	0.80 ± 0.01	98
t-BHP (0.25 mM)	0.68 ± 0.02	83
t-BHP (0.5 mM)	0.42 ± 0.01	53
CK 10 ug/ml	0.86 ± 0.03	104
CK 50 ug/ml	0.81 ± 0.02	99
CK (100 ug/ml)	0.79 ± 0.03	97

MTT activity was measured in the culture medium after 6 hr incubation with CK and after 1hr treatment of t-BHP. Each value was expressed as mean percentage ± S.E. of control cultures of three determinations.

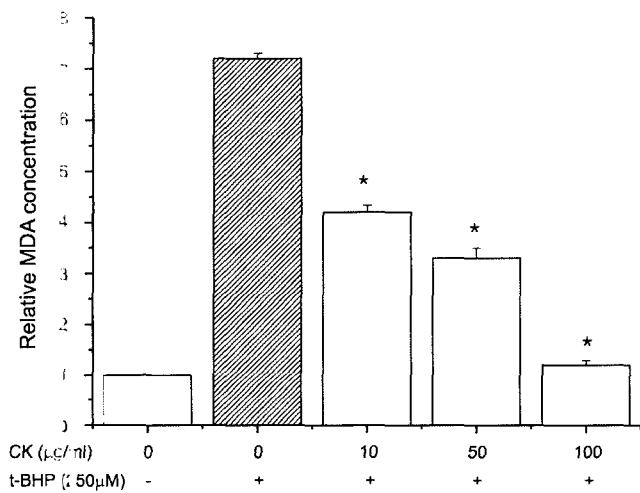


Fig. 2 – Effects of CK on t-BHP-induced lipid peroxidation. Hepatocytes were exposed to CK (0, 10, 50, and 100 µg/ml) and lipid peroxidation damage was determined by the rate of production of MDA in the presence of thiobarbituric acid. Each value represents mean ± S.E. of three independent experiments carried out in triplicate. *Significantly different from the t-BHP-treated control at P<0.05.

BHP는 0.25 mM에서 대조군에 비하여 53%의 생존율을 저하시켰다 (Table II). 이에 이 농도를 다음 실험에 사용하였다. 간세포의 생존율과 간세포 손상에 대한 다년생 길경의 효과를 측정하기 위하여 LDH와 ALT를 실시한 결과 t-BHP에 의한 간세포의 손상이 다년생 길경 농도에 의존적으로 감소함을 관찰하였다 (Fig. 1).

간세포의 다년생 길경의 지질과산화 억제작용

Fig 2에서 보여주는 바와 같이 t-BHP에 의해 산화적 스트레스가 유도된 일차배양 간세포에 비해 다년생 길경을 처리한 간세포에서 다년생 길경을 10, 50, 100 µg/ml로 처리하였을 때 각각 47, 58, 89%로 유의성 있게 지질과산화가 억제되었다 (p<0.05).

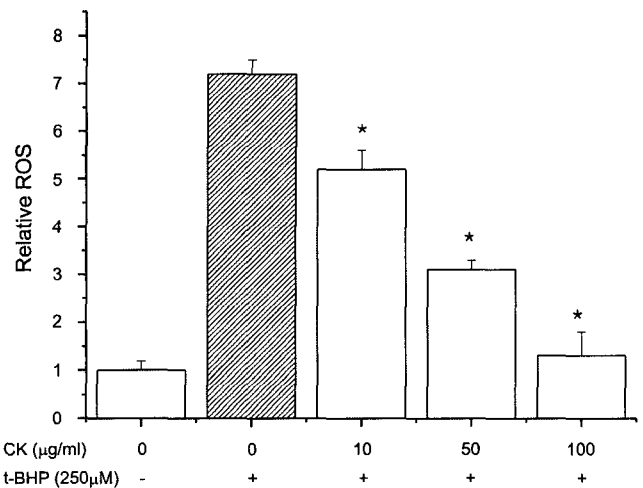


Fig. 3 – Effects of CK on t-BHP-induced cellular ROS production. Hepatocytes were treated with different concentrations of CK (10, 50, and 100 µg/ml) with t-BHP (250 µM). The bars represent the increase in fluorescence relative to unstimulated control cells at 20 min after addition of the stimulants. Each value represents mean ± S.E. of three independent experiments carried out in triplicate. *Significantly different from the t-BHP-treated control at P<0.05.

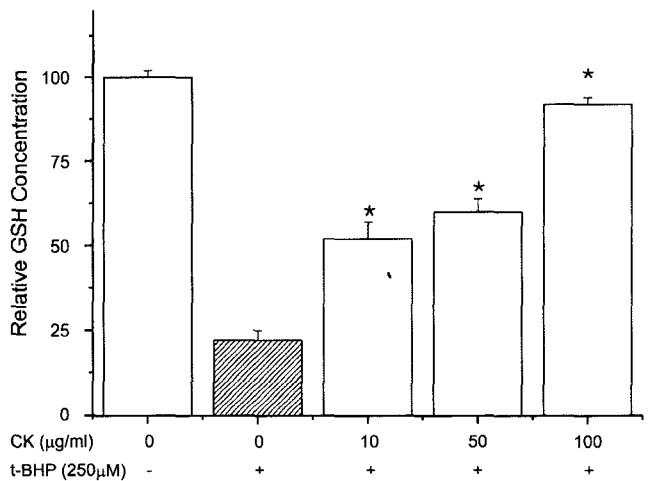


Fig. 4 – Effect of CK on glutathione content, at treated Effect of the CK treatment on the (GSH) content in rat hepatocyte. Hepatocytes were exposed to CK (0, 10, 50, and 100 µg/ml) for 1 h with t-BHP (250 µM). Glutathione (GSH) content was determined spectrophotometrically. Each value represents mean ± S.E. of three independent experiments carried out in triplicate. *Significantly different from the t-BHP-treated control at P<0.05.

간세포 내 다년생 길경의 reactive oxygen species (ROS) 소거작용

t-BHP에 의해 산화적 스트레스가 유도된 일차배양 간세포내 ROS에 의해 DCF-DA가 발색하여 형광을 띄는 원리를 이용하여

간 세포내 다년생 길경의 ROS 소거능을 측정하였다. 다년생 길경을 처리 한 경우 처리한 농도에 비례하여 간세포 내에 존재하는 ROS의 양이 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 3).

간세포내 glutathion (GSH) 함량 측정

산화적 스트레스에 의한 세포 사멸의 증가는 GSH 양의 감소를 통해 나타나기 때문에 이를 측정하기 위해 세포 내 GSH 양을 측정하였다. 그 결과 다년생 길경을 처리 한 경우 t-BHP만을 처리한 경우에 비하여 다년생 길경을 처리한 농도에 비례하여 간세포 내에 존재하는 GSH의 양이 회복되었다 (Fig. 4).

고 찰

ROS (reactive oxygen species; OH·, O₂⁻, RO·, ROO·, O₂)는 생체 내 대사 반응, 세균의 침입, 음식물의 섭취 및 담배연기 등과 같이 생체의 내부나 외부에서 들어오는 위해 물질들에 의해 발생된다. 이러한 ROS는 지질과산화물의 개시물질로 나타나는데 이는 분자상 산소와 직접 반응하여 organic peroxy radical (유기 과산화)를 형성함으로써, 세포장해를 일으켜 결국 간세포의 괴사까지 이르게 된다.

본 연구에서는 다년생 길경의 free radical 소거 작용에 의한 산화적 간세포독성 보호효과를 조사하였다. Table I에서 보는 바와 같이 hydroxoy radical (OH·)과 작용이 유사한 DPPH의 free radical 소거능과 superoxide (O₂⁻) 모두 다년생 길경 처리 농도에 비례하여 free radical 소거능이 증가하였다. 이러한 결과는 다년생 길경이 일차배양한 간세포 내 발생하는 radical을 직접 잡는 결과라 추정할 수 있다. 또한 세포 내 존재하는 ROS의 양을 측정한 결과 (Fig. 3)에서도 위 결과와 유사하게 다년생 길경을 처리한 경우 t-BHP만을 처리한 것과 비교시 다년생 길경 처리 농도 의존적으로 감소함을 관찰하였다.

간세포내에서 t-BHP는 2가지 방법에 의해 대사되어진다. 한 과정은 일차 배양된 간 세포 내에서 cytochrome P-450에 의해 peroxy 및 alkoxy radical 등과 같은 독성물질로 전환되며, 이러한 radical이 초기 지질과산화를 일으킨다. 다른 대사과정은 GSH peroxidase가 t-BHP와 결합하여 tert-butyl alcohol과 산화된 glutathion으로 전환됨으로서 해독되는 과정이다.²⁴⁾ 이러한 대사 과정을 통하여 간세포 내에서 t-BHP는 free radical을 생성하게 되고, 이렇게 생성된 free radical은 세포막을 구성하는 불포화 지방산과 직접적 및 간접적으로 반응하여 과산화 과정을 통해 분해됨으로서 결과적으로 MDA를 형성한다.^{25,26)} 이러한 일련의 과정을 거쳐 t-BHP는 간세포의 세포자연사나 세포괴사를 일으킨다.

본 실험결과에서 다년생 길경 (0-100 µg/ml)는 일차배양된 간세포에서 t-BHP에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 보호 효과를 세포막 손상시 배양액내로 유출되는 ALT, LDH 양, 세포

지질과산화 정도를 측정하는 MDA 양이 다년생 길경 처리농도에 비례하여 감소함을 관찰하였다 (Fig. 1, 2). 또한 세포 내 존재하는 glutathion (GSH)의 양도 다년생 길경 처리농도에 비례하여 회복되었다 (Fig. 4). 이러한 세포내 GSH의 양의 회복은 다년생 길경 자체가 GSH의 활성도에 관여하는 glutathione-S-transferase의 생성에 관여하지 않는다는 본 연구자들의 선행 결과⁹⁾에 비추어 볼 때 다년생 길경 자체가 free radical의 생성을 직접적 혹은 간접적으로 작용하여 억제시킴으로서 간세포 내 존재하는 GSH의 양이 회복 된 것으로 추정된다.

이러한 결과들을 종합해 볼 때 일차배양된 간세포에서 t-BHP의 대사과정에 의해서 발생하는 free radical을 다년생 길경이 직접 및 간접적으로 반응하여 세포내 존재하는 free radical의 양을 현저히 줄임으로서, 그에 따라 세포 내에서 지질과산화 현상을 방어하여, 세포막 손상시 배양액으로 유출되는 ALT, LDH의 양을 감소시켰으며, 간세포 내에서 t-BHP에 의해 발생하는 독성 물질들을 제거하는 GSH의 양도 회복되었을 것으로 사료된다. 이는 다년생 길경을 지속적으로 섭취시 정상상태의 대사과정에서 발생하는 free radical 뿐만 아니라 음식물, 세균 감염 및 담배 등과 같은 외부 해로운 물질에 의해 발생하는 free radical을 제거함으로써 인체에서 해독작용을 담당하는 조직인 간의 보호 효과에 큰 효과를 보여 줄 것이라 시사할 수 있다.

감사의 말씀

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린21사업의 지원에 의해 이루어진 것임. 본 실험에서 사용된 다년생 길경을 제공해준 (주) 장생도라지에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Lim, K. H. : A Medicinal Phytology (The details). *Dong Myoung Sa*, 281 (1971).
- 2) Lee, S. I. : Chinese Pharmaceutics. *Soo Seo Won*, 129 (1981).
- 3) Igarash. K. : *Sogogaku.*, 81 (1951).
- 4) 이은방 : 길경의 약리학적 연구. *생약학회지*, 5, 49 (1974).
- 5) Hirome, Y., Susmu, H. and Hicolcichi, O. : Ra plasma corticosteron secretion inducing activities of total saponin and prosapogenin methyl esters from the roots fo *Platycodon grandiflorum* A. DC. *Yakugaku Zasshi*, 102, 1191 (1982).
- 6) Hitokoto, H., S. Morozumi, T. Wauke, S. Sakai, and I. Ueno : Inhibitory effects of condiments and herbal drugs on the growth and toxin production of toxigenic fungi. *Mycopathologia.*, 66, 161 (1979).
- 7) Kubo, M., Nagao, T., Matsuda, H. and Namba, K. : Immune pharmacological studies on platycodi radix I: Effect on the phagocytosis in the mouse. *Shoyagaku Zasshi.*, 40, 367 (1986).

- 8) Nagao, T., Matsuda, H. Namba, K. and Kubo, M. : Immunopharmacological studies on platycodi radix II. Antitumor activity of inulin from platycodi radix. *Shoyakugaku Zasshi.*, **40**, 375 (1986).
- 9) Lee, K. J., You, H. J., Park, S. J., Kim, Y. S., Chung, Y. C., Jeong, I. C. and Jeong, H. G. : Hepatoprotective effects of *Platycodon grandiflorum* on acetaminophen-induced liver damage in mice. *Cancer Lett.*, **174**, 73 (2001).
- 10) Lee, K. J. and Jeong, H. G. : Protective effect of Platycodi Radix on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Food Chem. Toxicol.*, **40**, 47 (2002).
- 11) Choi, C. Y., Kim, J. Y., Kim, Y. S., Chung, Y. C., Seo, J. K. and Jeong, H. G. : Aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum* inhibits release of nitric oxide and tumor necrosis factor- α from murine macrophages. *International Immunopharmacology*, **1**, 1141 (2001).
- 12) Choi, C. Y., Kim, J. Y., Kim, Y. S., Chung, Y. C., Hahm, K. S. and Jeong, H. G. : Augmentation of macrophage functions by an aqueous extract isolated from *Platycodon grandiflorum*. *Cancer Lett.*, **166**, 17 (2001).
- 13) Szuster-Ciesielska, A., Daniluk, J. and Kandefr-Szerszen, M. : Alcohol-related cirrosis with pancreatitis. The role of oxidative stress in the progression of the disease. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* **49**, 19 (2001).
- 14) Maria-Liisa, S., Heikki, A., Anni, H., Fulvio, U., Tom, M., Antonella, R., Donscho, K. and Harry, H. : Lipid peroxidation in human proteinuric disease. *Cell Biol. Immunol. Pathol. Intern. Soc. Nephrol.* **59**, 481 (2001).
- 15) Cracoski, J. L., Marpeau, C., Carpentier, P. H., Imbert, B., Funt, M., Stake-Labesque, F. and Bessard, G. : Enhanced in vivo lipid peroxidation in scleroderma spectrum disorders. *Arthritis Rheum.* **44**, 1143 (2001).
- 16) Stanley Mainzen Princem, P. and Menon, V. P. : Antioxidant action of *Tinospora cordifolia* root extract in alloxan diabetic rats. *Phytother. Res.* **15**, 213 (2001).
- 17) Young, I. S. and McEneny, J. : Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochem. Soc. Trans.* **29**, 358 (2001).
- 18) Radi, R., Beckman, J. S., Bush, K. M. and Freeman, B. A. : Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation; The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* **288**, 481 (1991).
- 19) Rush, G., Gorski, J. R., Ripple, M. G., Sowinski, J., Bugelski, P. and Hewitt, W. R. : Oranic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **78**, 473 (1985).
- 20) Altman, S. A., Zastawny, T. H., Randers, L., Lin, Z., Lumpkin, J. A., Remacle, J., Dizdaroglu, M. and Rao, G. : Tert-butyl hydroperoxide-mediated DNA base damage in cultured mammalian cells. *Mutat. Res.* **306**, 35 (1994).
- 21) Kim, K. S., Ezaki, O., Ikemoto, S. and Itakura, H. : Effects of *Platycodon grandiflorum* feeding on serum and liver lipid concentrations in rats with diet-induced hyperlipidemia. *J. Nut. Sci. Vitaminol.* **41**, 485 (1995).
- 22) Dickins, M. and Peterson, P. E. : Effects of a hormone-supplemented medium on cytochrome P-450 content and mono-oxygenase activities of rat hepatocytes in primary culture. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1231 (1980).
- 23) Witter, R. and Grubbs, L. M. : The Reitman-Frankel colorimetric transaminase procedure in suspected myocardial infarction. *Clin Chem.* **13**, 482 (1967).
- 24) Rush, G., Gorski, J. R., Ripple, M. G., Sowinski, J., Bugelski, P. and Hewitt, W. R. : Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Phram.* **78**, 473 (1985).
- 25) Esterbauer, H., Zollner, H. and Schur, R. J. : Hydroxyalkenals; cytotoxic products of lipid peroxidation. *Science Biochem.* **1**, 311 (1988).
- 26) Vaca, C. E., Vodica, P. and Hemminiki, K. : Determination of malonaldehyde-modified 2-(deoxyguanosine-3)-monophosphate and DNA by 32-P-postlabelling. *Carcinogenesis.* **13**, 593 (1992).