

양파(*Allium cepa*) 추출물의 간보호 및 항산화 효과

임태진*, 임상철

상지대학교 생명자원과학대학 환경바이오시스템학부

The Hepatoprotective and Antioxidative Effects of Onion (*Allium cepa*) Extracts in Rat Hepatocyte Primary Culture

Tae-Jin Rhim* and Sang-Cheol Lim

Division of Environment and Biosystem, College of Life Science and Natural Resources,
Sangji University, Wonju 220-702, Korea

ABSTRACT

The objective of present study was to investigate the hepatoprotective and antioxidative effects of onion extracts. Primary cultures of rat hepatocytes were incubated with 1.5 mM tert-butyl hydroperoxide(t-BHP), potent oxidizing agent to liver, for 1 hr in the presence or absence of various concentrations (0, 0.01, 0.05, 0.1 or 0.3 mg/ml) of onion extract. Incubation with t-BHP increased glutamic oxaloacetic transaminase(GOT) and lactate dehydrogenase(LDH) activities and thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) concentration but decreased 3-(4,5-dimethylthiazol -2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) reduction. Onion extracts at the concentration of 0.05 mg/ml decreased t-BHP-induced GOT and LDH activities. Onion extract at the concentration of 0.1 mg/ml increased t-BHP-induced MTT reduction. Onion extract at the concentration of 0.01 mg/ml decreased t-BHP-induced TBARS concentration. Taken together, onion extracts prevented t-BHP-induced hepatocyte injury and lipid peroxidation. Catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px) and glutathione reductase(GSH-Rd) activities of hepatocytes were significantly decreased by t-BHP. Onion extracts at the concentration of 0.1 mg/ml prevented t-BHP-induced decrease in catalase, GSH-Px and GSH-Rd activities. Onion extracts prevented hydroxyl radical-induced single-strand breakage in dose-dependent manner when plasmid DNA was incubated with various concentrations of onion extracts in the presence of Fenton reagents producing hydroxyl radical. These results demonstrate that onion extracts suppressed t-BHP-induced cytotoxicity, decreased viability and lipid peroxidation and increased GSH-Px, GSH-Rd and catalase activities. Thus hepatoprotective and antioxidant effects of onion extract seem to be due to, at least in part, the increase in antioxidant enzyme activities as well as prevention from hydroxyl radical-induced oxidation, followed by inhibition of lipid peroxidation.

Key words : Onion extracts, cytotoxicity, lipid peroxidation, antioxidant enzymes, DNA strand breaking, rat hepatocyte

*교신저자 : E-mail : tjrhim@sangji.ac.kr

서언

과일과 채소 등에 포함되어 있는 비타민 C, 비타민 E, β -카로틴 및 폴리페놀 등과 같은 항산화물질들은 순환계 질병과 암 발생율을 감소시킨다고(Block *et al.*, 1992; Diplock *et al.*, 1998) 알려져 있다. 플라보노이드는 폴리페놀의 일종으로써 다양한 구조를 가지며 식물계에 널리 분포하고 있다. *Allium* 과에 속하는 양파는 우리나라에서 식이 플라보노이드의 주된 공급원으로써, quercetin, kempherol 등의 플라보노이드가 풍부하며(Price and Rhodes, 1997; Chu *et al.*, 2000; Nuutila *et al.*, 2003) 특히, quercetin은 표피 바로아래에 가장 많이 분포한다고(Patil and Pike, 1995) 알려져 있다. 양파 섭취와 암 발생간 역의 상관관계가(Dorant *et al.*, 1996) 보고되었으며, 양파 섭취는 atherosclerosis 또는 thrombotic disease를 감소시켰다(Srivastava, 1986; Kendler, 1987). 또한 quercetin은 당뇨의 산화스트레스를 감소시켰고(Mahesh and Menon, 2004) 지질수준을 저하시켰다고(Bordia *et al.*, 1975) 보고된 바 있다.

지질과산화(lipid peroxidation)는 막결합단백질의 활성을 억제하거나 reactive oxygen species를 생성함으로써 동맥경화, 고혈압 등의 질병을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 체내에서는 이러한 reactive oxygen intermediate와 지질과산화와 같은 산화스트레스로부터 세포를 보호하기 위해 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione reductase(GSH-Rd) 등의 효소계 항산화물질들과 비타민 A, 비타민 E, selenium, glutathione 등의 비효소계 항산화물질들로 구성된 항산화 방어기전이 존재한다. 특히 catalase와 GSH-Px는 hydroxyl radical 형성의 전구물질인 hydrogen peroxide를 물로 분해시키는 반응을 촉매하여 세포내 hydroxyl radical의 수준을 감소시키며

(Harris, 1992; Michiels *et al.*, 1994) GSH-Rd는 산화형태의 glutathione을 항산화제인 환원형태의 glutathione로 전환시킴으로써(Rall and Lehninger, 1952) 산화스트레스에 대한 방어기능을 수행한다.

지금까지 양파의 독성 및 산화에 미치는 효과에 관한 수많은 연구들은 대부분 *in vivo* 실험에 의해 수행되었으나 간세포 *in vitro* 시스템을 이용한 양파 추출물의 간독성, 산화 및 항산화 방어에 대한 효과는 거의 보고된 바 없다. 최근에 단쇄 지질과산화물(short-chain lipid hydroperoxide)인 t-butyl hydroperoxide(t-BHP)를 이용한 간세포 일차배양 시스템은 천연 추출물의 간손상, 지질과산화 억제, 항산화효 및 다양한 생물학적 효과들을 연구하는데 유용한 모델로 많이 사용되고 있다. 따라서, 양파 추출물의 항산화 및 간보호 효과를 이해하기 위해서 본 연구에서는 간세포 일차배양을 통해 양파 추출물이 t-BHP에 의해 유발된 간세포 독성, 지질과산화 및 항산화효소 활성화에 미치는 영향을 조사하였으며 DNA strand breaking 방법을 이용하여 양파추출물의 hydroxyl radical에 대한 항산화 활성을 조사하였다.

재료 및 방법

시약

Supercoiled plasmid pBR 322 DNA는 Roche사에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum은 Cambrex사에서 구입하였고, HBSS, WME 및 L-glutamine은 GIBCO사에서 구입하였으며 기타 세포배양에 필요한 시약들과 생화학적 분석에 필요한 시약들은 Sigma Chemical(USA)사에서 구입하여 사용하였다.

양파 추출

전라남도 무안군에서 생산되는 양파(*Allium*

cepa)를 구입하여 시료로 사용하였다. 가장 바깥쪽의 주황색을 띤 표피를 제거하여 음지에서 통풍건조한 뒤 세절하였다. 분쇄한 양파표피 15 g을 100 ml methanol(HPLC-grade)로 1시간 정도 교반한 뒤 20분 동안 ultrasonication 시켰다. 상등액을 제거한 다음 methanol 추출을 2번 더 실시하였다. 상등액을 모두 수거하여 Whatman #1 여과지를 사용하여 여과한 다음 evaporation시켜 최종적으로 0.8 g 가량 수거하였다. Methanol 양파추출물은 dimethyl sulfoxide에 녹여 실온에서 보관하였다.

실험동물

(주)오리엔트로부터 구입한 6주령 Sprague-Dawley 수컷 랫드를 실험동물로 사용하였다. 본 실험실에서 사료와 물은 무제한 공급하였고 1주일의 적응기간을 거친 다음 간세포배양을 실시하였다.

Supercoiled DNA strand breaking assay

Hydroxyl radical에 의한 DNA strand breaking은 Hiramoto *et al.* (1996)의 방법에 따라 측정하였다. Supercoiled pBR 322 DNA에 다양한 농도의 양파추출물을 넣고 H₂O₂(최종농도 0.099 mM)와 FeSO₄(최종농도 0.099 mM)와 함께 37°C에서 1시간 배양한 후 1% agarose로 전기영동을 실시하였다. 각 DNA band의 density는 Scion Image program(Scion Image Beta 4.02 for windows)을 사용하여 측정하였다.

간세포배양

간세포 일차배양은 Seglen (1976)의 collagenase perfusion 방법을 기초로 하여 다음과 같이 실시하였다. 실험동물에 urethane(1 g/kg BW)을 복강주사하여 마취시킨 뒤 37°C로 가온된 collagenase-free, Ca²⁺·Mg²⁺-free HBSS buffer를 이용하여 관

류에 의해 혈액을 간으로부터 유출시킨 후 간세포를 분리하였다. 세포 생존율과 세포수를 측정 한 후 세포수를 5×10⁵ cells/ml이 되도록 WME 배양액으로 희석하였다. Cell suspension을 6-well culture plate 또는 100-mm culture dish에 분주한 후 CO₂ incubator에 넣고 37°C에서 4시간 배양하였다. Serum-free WME 배양액으로 2번 세척하여 well에 부착되지 않은 세포들을 제거하고, 처리용액(t-BHP, 양파추출물)을 포함한 새로운 WME 배양액을 첨가하여 CO₂ incubator에 넣고 37°C에서 1시간 동안 배양하였다.

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) assay

간세포의 생존 및 증식은 MTT값에 의해 결정하였다. 배양액을 제거한 후 Mosmann (1983)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 처리군의 MTT값은 대조구를 100%로 기준하여 %MTT 감소로 표시하였다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) assay

지질과산화는 배양액의 TBARS 농도를 측정함으로써 결정하였다. 배양후 배양액을 채취하여 4°C에서 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하였고, 상등액을 취하여 측정시까지 -20°C에서 보관하였다. TBARS 농도는 Uchiyama and Mihara (1978)의 방법을 수정한 Sunderman *et al.* (1985)의 방법에 따라 처리군별 4반복하여 측정하였다. TBARS 농도는 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액으로 사용한 malondialdehyde 농도로 표기하였다.

효소 분석

배양후 배양액을 채취하여 4°C에서 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하였고, 상등액을 취하여 측정시까지 -20°C에서 보관하였다. Glutamic oxaloacetic transaminase

(GOT) 활성은 Reitman and Frankel (1957)의 방법에 따라 측정하였다. Lactate dehydrogenase(LDH) 활성은 Vassault (1983)의 방법에 따라 측정하였다.

Catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성을 측정하기 위해 culture dish에 부착되어 있는 세포를 PBS용액으로 세척한 다음 policeman을 사용하여 분리하였다. 수거한 세포는 20 mM MOPS와 300 mM sucrose를 포함한 균질용액으로 균질한 후 원심분리에 의해 세포질 상등액을 채취하여 측정시까지 -85°C 에 보관하였다. Catalase 활성은 Aebi (1984)의 방법에 따라 측정하였고, 효소활성은 분당 소비되는 H_2O_2 μmole 로 계산하였으며 mg 단백질당 표기하였다. GSH-Px 활성은 Flohe and Gunzler (1984)의 방법에 따라 측정하였고, 효소활성은 분당 산화되는 NADPH μmole 로 계산하였으며 mg 단백질당 표기하였다. GSH-Rd 활성은 Carlberg and Mannervick (1955)의 방법에 따라 측정하였고, 효소활성은 분당 산화되는 NADPH μmole 로 계산하였으며 mg 단백질당 표기하였다. GOT, LDH, catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성은 각각 처리군별 4반복하여 측정하였다.

단백질 정량

단백질 함량은 BSA를 표준시약으로 사용하여 Bradford (1976)의 방법에 따라 측정하였다.

자료분석 및 통계처리

처리군별 %MTT 감소, TBARS 농도, 효소 활성 및 DNA band density들은 일원 분산분석을 사용하여 조사하였으며, 처리효과가 인정되는 경우 처리군별 평균값의 차이는 Student-Newman-Keuls' test(Steel and Torre, 1980)를 사용하여 $p < 0.05$ 에서 유의성을 조사하였다.

결과 및 고찰

t-BHP는 간세포내 cytochrome P450에 의해 alkoxy 및 peroxy radical로 대사되며 (Davies, 1989; Masaki *et al.*, 1989b; Minotti, 1989) 이러한 free radical intermediates가 지질과산화물 개시함으로써 (Hogberg *et al.*, 1975; Masaki *et al.*, 1989a) 세포 손상을 초래한다고(Rush *et al.*, 1985) 알려져 있다. 따라서, 본 실험에서는 간세포의 산화손상을 유도할 목적으로 t-BHP를 사용하여 양파의 간보호 효과를 연구하였다. 다양한 농도의 양파추출물이 t-BHP로 유발된 간세포 손상 및 지질과산화에 미치는 효과는 Table 1과 같았다. 간세포 또는 세포막 손상 지표로 GOT 및 LDH 활성을 측정하였으며, 미토콘드리아 활성 및 지질과산화 지표로 MTT값과 TBARS 농도를 각각 측정하였다. 양파추출물 첨가없이 1.5 mM 농도의 t-BHP로 간세포를 1시간 동안 배양한 결과, t-BHP는 GOT와 LDH 활성 및 TBARS 농도를 현격히 증가시켰으며, 반면에 MTT 값을 감소시켰다. Hwang *et al.* (2002)은 간세포배양에서 1.5 mM t-BHP로 30분간 처리는 LDH leakage, 지질과산화, GSH 손실 및 DAN 손상을 유발시켰다고 보고한 바 있으며, 본 연구에서 관찰된 t-BHP의 세포독성으로 인한 간세포 생존율 감소 및 지질과산화 촉진효과는 기존에 발표된 연구결과(Joyeux *et al.*, 1990; Tseng *et al.*, 1996)와도 일치하고 있다.

양파추출물 0.05 mg/ml의 첨가는 t-BHP에 의해 증가된 GOT 활성을 감소시켰다. 양파추출물의 첨가 농도가 증가할수록 GOT 활성은 더욱 더 감소하여, 0.3 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가는 GOT 활성을 t-BHP 무첨가(control) 수준으로 감소시켜, 양파추출물은 농도 의존적으로 간세포 손상을 억제시켰음을 알 수 있었다. t-BHP에 의해 증가된 LDH 활성도 0.05 mg/ml 농도의 양파추출물에 의해 유의적으로 감소하였다. 양파추출물 첨가 농도가 증가함에

따라 LDH 활성도 더욱더 감소하여, 0.3 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가는 LDH 활성을 t-BHP 무첨가 수준까지 감소시켜, 양파추출물은 농도 의존적으로 세포 생존율을 증가시켰음을 알 수 있었다. t-BHP에 의해 억제된 %MTT 감소는 0.1 mg/ml 농도 이상의 양파추출물에 의해 증가되었으며, 0.3 mg/ml 농도의 양파추출물은 %MTT 감소를 t-BHP 무첨가 수준까지 증가시켜 세포손상을 회복시켰다. 반면에, t-

BHP에 의해 유발된 TBARS 농도 증가는 최저 첨가 농도인 0.01 mg/ml의 양파추출물 첨가에 의해 억제되었다. GOT 및 LDH 활성 감소의 경우와 유사하게 양파추출물의 농도가 증가함에 따라 TBARS 농도도 감소하였으나, 0.3 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가시 TBARS 농도는 t-BHP 무첨가 수준까지 지질과산화를 억제시키지는 못하였다. 본 연구결과와 유사하게 Nuutila *et al.* (2003)은 suspension

Table 1. Effects of onion extracts on GOT and LDH activities, MTT reduction and TBARS concentration in primary cultures of rat hepatocytes exposed to 1.5 mM of t-BHP

Groups	GOT	LDH	MTT	TBARS
Onion Extract(mg/ml)	(U/l)	(nmol NADH consumed/min)	(% reduction)	(μ M)
Control	5.6 \pm 1.22 ^a	187.8 \pm 12.30 ^a	100.0 \pm 1.33 ^a	3.0 \pm 0.35 ^a
0	41.5 \pm 1.73 ^b	832.1 \pm 52.81 ^b	4.7 \pm 0.34 ^b	13.0 \pm 0.55 ^b
0.01	46.5 \pm 5.67 ^b	744.0 \pm 65.75 ^b	6.8 \pm 1.31 ^b	11.4 \pm 0.22 ^c
0.05	30.1 \pm 2.53 ^c	512.4 \pm 46.67 ^c	17.2 \pm 1.82 ^b	8.8 \pm 0.44 ^d
0.1	17.0 \pm 1.12 ^d	336.3 \pm 24.42 ^d	79.7 \pm 7.08 ^c	5.6 \pm 0.50 ^c
0.3	8.6 \pm 0.68 ^a	207.3 \pm 4.57 ^a	90.7 \pm 6.15 ^{a,c}	4.9 \pm 0.40 ^c

Hepatocytes were cultured for 1 hr in the presence of 1.5 mM of t-BHP and various concentrations of onion extracts except in control group where hepatocytes were maintained in the absence of t-BHP and onion extracts. Values are presented as the means \pm SE derived from four determinations.

^{a,b,c,d,e} Values in the same column with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

Table 2. Effects of onion extracts on catalase, GSH-Px and GSH-Rd activities in primary cultures of rat hepatocytes exposed to 1.5 mM of t-BHP

Groups	Catalase	GSH-Px	GSH-R
Onion Extract (mg/ml)	(μ mole H ₂ O ₂ consumed /min/mg protein)	(nmol NADHP oxidized /min/mg protein)	(nmol NADHP oxidized /min/mg protein)
Control	109.7 \pm 17.03 ^a	48.0 \pm 2.84 ^a	325.3 \pm 17.82 ^a
0	25.6 \pm 2.50 ^b	17.6 \pm 1.18 ^b	70.7 \pm 8.26 ^b
0.01	34.5 \pm 6.23 ^b	17.4 \pm 1.84 ^b	84.0 \pm 15.30 ^b
0.05	41.5 \pm 7.07 ^b	21.3 \pm 1.66 ^b	105.3 \pm 10.75 ^b
0.1	74.9 \pm 8.94 ^a	36.0 \pm 2.40 ^c	237.3 \pm 27.93 ^c
0.3	90.7 \pm 12.67 ^a	37.1 \pm 4.38 ^c	230.7 \pm 25.43 ^c

Hepatocytes were cultured for 1 hr in the presence of 1.5 mM of t-BHP and various concentrations of onion extracts except in control group where hepatocytes were maintained in the absence of t-BHP and onion extracts. Values are presented as the means \pm SE derived from four determinations.

^{a,b,c} Values in the same column with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

culture를 이용한 연구에서 양파추출물이 t-BHP에 의해 유발된 지질과산화물을 현저히 감소시켰다고 보고한 바 있다.

다양한 농도의 양파추출물이 t-BHP에 의해 유발된 간세포의 catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성에 미치는 효과는 Table 2와 같다. 1시간 동안 1.5 mM 농도의 t-BHP로 간세포를 일

차배양한 결과, 간세포의 catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성은 t-BHP 무첨가군에 비해 각각 현저히 감소하였다. 0.05 mg/ml 농도까지의 양파추출물 첨가는 t-BHP에 의해 억제된 catalase 활성에 영향을 미치지 못하였으나, 0.1 mg/ml 이상 농도의 양파추출물 첨가는 catalase 활성을 t-BHP 무첨가 수준까지 증가

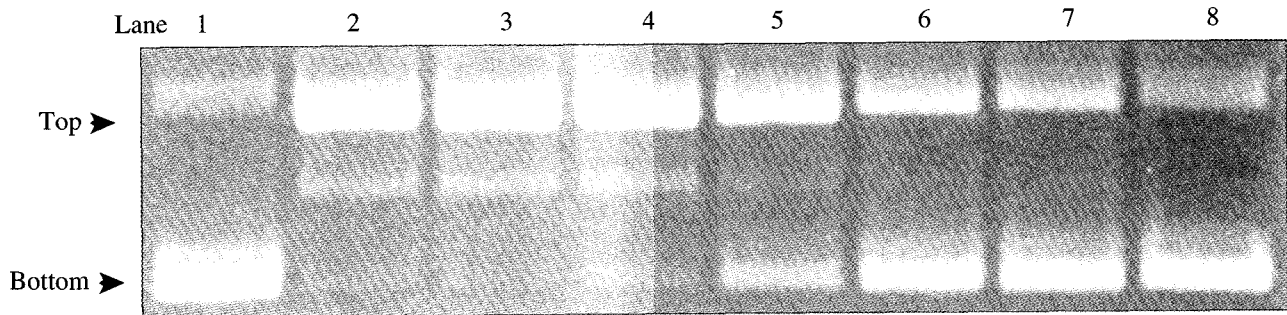


Fig. 1. Electrophoresis of supercoiled plasmid DNA treated with hydroxyl radical in the presence of various concentrations of onion extracts.

Supercoiled pBR 322 DNA was incubated with 0.1 mM H₂O₂ and 0.1 mM FeSO₄ in the presence of onion extracts at 37 °C for 1 hr. Lane 1, no H₂O₂, FeSO₄ and onion extract addition; lane 2, H₂O₂ and FeSO₄ alone, no onion extract addition; lane 3, 0.0001 mg/ml onion extract; lane 4, 0.001 mg/ml onion extract; lane 5, 0.01 mg/ml onion extract; lane 6, 0.1 mg/ml onion extract; lane 7, 1 mg/ml onion extract; lane 8, 5 mg/ml onion extract.

Table 3. Effects of onion extracts on the protection of supercoiled plasmid DNA against DNA single-strand breakage induced by hydroxyl radical

Groups	Density (Arbitrary Unit)	
	Top Band	Bottom Band
Onion Extracts(mg/ml)		
Control	325 ± 9.3 ^a	1148 ± 41.5 ^a
0	971 ± 357 ^b	31.8 ± 2.7 ^b
0.0001	952 ± 267 ^b	38 ± 3.5 ^b
0.001	946 ± 11.6 ^b	71 ± 4.4 ^b
0.01	794 ± 23.9 ^c	513 ± 20.5 ^c
0.1	572 ± 7.6 ^d	900 ± 11.5 ^d
1	502 ± 5.7 ^e	1002 ± 25.4 ^e
5	386 ± 10.5 ^a	1106 ± 26.1 ^a

Supercoiled pBR 322 DNA (10 ug/ml) were incubated at 37 °C for 1 h in the presence of 0.1 mM H₂O₂, 0.1 mM FeSO₄ and various concentrations of onion extracts except in control group where pBR 322 DNA were maintained without 0.1 mM H₂O₂, 0.1 mM FeSO₄ and onion extract. The supercoiled and open circular forms of plasmid DNA were separated on a 1% agarose gel. Values from densitometry analysis of each band are presented as the means ± SE derived from four determinations.

^{a,b,c,d,e} Values in the same column with different superscripts are significantly different (p < 0.05).

시켰다. 양파추출물의 첨가 농도가 증가함에 따라 GSH-Px와 GSH-Rd 활성은 각각 증가하는 추세를 보여, 0.1 mg/ml 이상 농도의 양파추출물 첨가는 t-BHP에 의해 감소한 GSH-Px 및 GSH-Rd 활성을 유의적으로 증가시켰으나 t-BHP 무첨가 수준에는 미치지 못하였다.

DNA 전기영동을 이용하여 양파추출물 농도별 hydroxyl radical에 의해 유도된 DNA strand breaking에 미치는 효과는 Fig. 1과 Table 3에 나타나 있다. Supercoiled pBR 322 DNA는 hydroxyl radical를 생성하는 Fenton 시약인 H₂O₂와 FeSO₄ 존재하에 supercoiled form(bottom band in Fig. 1)은 single-strand가 절단되어 nicked open circular form(top band in Fig. 1)으로 전환되었다(control vs 0 mg/ml onion extract group in Table 3). Fenton 시약의 존재하에 plasmid DNA를 양파추출물과 함께 배양하였을 때, 양파추출물 농도가 증가함에 따라 nicked open circular form은 감소한 반면 supercoiled form은 증가하여, 5 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가시 DNA band pattern은 Fenton 시약이 존재하지 않은 상태에서의 plasmid DNA band pattern과 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(Lane 1 vs 8 in Fig. 1; control vs 5 mg/ml onion extract group in Table 3). 따라서 양파추출물은 농도 의존적으로 hydroxyl radical에 의해 유도된 single-strand 절단을 억제하였음을 알 수 있었다.

이상과 같이 간세포 일차배양에서 양파추출물은 t-BHP에 의해 유도된 간독성, 간세포 생존율 감소, 지질과산화를 억제시켰다. 이와 같이 양파추출물의 항산화 및 간보호 효과는 항산화 효소, 특히 catalase의 활성 증가 및 hydroxyl radical에 의해 유도된 산화억제에 기인하는 것으로 사료된다.

적요

본 연구의 목적은 양파추출물의 간보호 및 항산화 효과를 조사하기 위함이다. 간 손상을 유발시키는 t-BHP (1.5 mM) 존재하에 간세포를 0, 0.01, 0.05, 0.1 및 0.3 mg/ml의 다양한 농도의 양파추출물로 1시간 동안 일차배양하였다. t-BHP는 GOT와 LDH 활성 및 TBARS 농도를 증가시켰으며 MTT값은 감소시켰다. 0.05 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가는 t-BHP에 의해 증가된 GOT 및 LDH 활성을 감소시켰으며 0.1 mg/ml 농도의 양파추출물은 t-BHP에 의해 감소된 MTT 값을 증가시켰다. 또한 0.01 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가는 t-BHP에 의해 증가된 TBARS 농도를 감소시켜 양파추출물이 t-BHP에 의해 유발된 간손상과 지질과산화를 억제시켰다. t-BHP 처리는 간세포의 catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성을 현저히 감소시켰다. 그러나 0.1 mg/ml 농도의 양파추출물 첨가는 t-BHP에 의해 감소된 catalase, GSH-Px 및 GSH-Rd 활성을 증가시켰으며 특히 catalase 활성은 t-BHP 무첨가군 수준까지 증가시켰다. 또한 hydroxyl radical을 생성하는 Fenton 시약의 존재하에 plasmid DNA를 양파추출물과 함께 배양한 결과 양파추출물은 농도 의존적으로 hydroxyl radical에 의해 유도된 single-strand 절단을 억제하였다. 이상과 같이 간세포 일차배양에서 양파추출물은 t-BHP에 의해 유발된 간독성, 간세포 생존율 감소, 지질과산화를 농도 의존적으로 억제시켰고 또한 t-BHP에 의해 억제된 GSH-Px, GSH-Rd 및 catalase의 활성을 증가시켰다. 이와 같이 양파추출물의 간보호 및 항산화 효과는 항산화 효소, 특히 catalase의 활성 증가와 hydroxyl radical에 의해 유도된 산화억제 및 이에 따른 지질과산화 억제에 기인하는 것으로 사료된다.

사사

본 연구는 2003년도 상지대학교 교내 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

인용문헌

- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105:121-126.
- Block, G., B. Patterson and A. Subar. 1992. Fruits, vegetables and cancer prevention: a review of the epidemiological evidence. *Nutr. Cancer.* 18:1-29.
- Bordia, A., H.C. Bansal, S.K. Arora and S.V. Singh. 1975. Effect of the essential oils of garlic and onion on alimentary hyperlipemia. *Atherosclerosis* 21:15-19.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72:248-254.
- Carlberg, I. and B. Mannervik. 1955. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.* 113:484-490.
- Chu, Y.-H, C.-L. Chang and H.-F. Hsu. 2000. Flavonoid content of several vegetables and their antioxidant activity. *J. Sci. Food Agri.* 80:561-566.
- Davies, M.J. 1989. Detection of peroxy and alkoxy radicals produced by reaction of hydroperoxides with rat liver microsomal fractions. *Biochem. J.* 257:603-606.
- Diplock, A.T., J.-L. Charleux, G. Crozier-Willi, F.J. Kok, C. Rice-Evans, M. Roberfroid, W. Stahl and J. Vina-Ribes. 1998. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Brit. J. Nutr.* 80S:S77-S112.
- Dorant, E., P.A. van den Brandt, R.A. Goldbohm and F. Sturmans. 1996. Consumption of onions and a reduced risk of stomach carcinoma. *Gastroenterology.* 110:12-20.
- Flohe, L. and W.A. Gunzler. 1984. Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 105:114-121.
- Harris, E.D. 1992. Regulation of antioxidant enzymes. *FASEB. J.* 6:2675-2683.
- Hiramoto, K., N. Ojima, K.-I. Sako and K. Kikugawa. 1996. Effect of plant phenolics on the formation of the spin-adduct of hydroxyl radical and the DNA strand breaking by hydroxyl radical. *Biol. Pharm. Bull.* 19:558-563.
- Hogberg, J., S. Orreniun and P.J. O'Brien. 1975. Further studies on lipid-peroxide formation in isolated hepatocytes. *Eur. J. Biochem.* 59:449-455.
- Hwang, J.-M., C.-J. Wang, F.-P. Chou, T.-H. Tseng, Y.-S. Hsieh, W.-L. Lin and C.-Y. Chu. 2002. Inhibitory effect of berberine on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative damage in rat liver. *Arch. Toxicol.* 76:664-670.
- Joyeux, M., A. Rolland, J. Fleurentin, F. Mortier and P. Dorfman. 1990. Tert-butyl hydroperoxide-induced injury in isolate rat hepatocytes: a model for studying anti-hepatotoxic crude drugs. *Planta Med.* 56:171-174.
- Kendler, B.S. 1987. Garlic (*Allium sativum*) and onion (*Allium cepa*): a review of their relationship to cardiovascular disease. *Prev. Med.* 16:670-685.
- Mahesh, T. and V.P. Menon. 2004. Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytother. Res.* 18:123-127.
- Masaki, N., M.E. Kyle and J.L. Farber. 1989a. Tert-butyl hydroperoxide kills cultured hypatocytes by peroxidizing membrane lipids. *Arch. Biochem. Biophys.* 269:390-399.
- Masaki, N., M.E. Kyle, A. Serroni and J.L. Farber. 1989b. Mitochondrial damage as a mechanism of cell injury in the killing of cultured hepatocytes by tert-butyl hydroperoxide. *Arch. Biochem. Biophys.* 270:672-680.
- Michiels, C., M. Raes, O. Toussaint and J. Remacle.

1994. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.* 17:235-248.
- Minotti, G. 1989. Tert-butyl hydroperoxide-dependent microsomal release of iron and lipid peroxidation. I. Evidence for the reductive release of nonheme, nonferritin iron. *Arch. Biochem. Biophys.* 273:137-143.
- Mosmann, T. 1983. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* 65:55-63.
- Nuutila, A.M., R. Puupponen-Pimia, M. Aarni and K.-M. Oksman-Caldentey. 2003. Comparison of antioxidant activities of onion and garlic extracts by inhibition of lipid peroxidation and radical scavenging activity. *Food Chem.* 81:485-493.
- Patil, B.S. and L.M. Pike. 1995. Distribution of quercetin content in different rings of various coloured onion (*Allium cepa* L.) cultivars. *J. Hortic. Sci.* 70:643-650.
- Price, K.R. and M.J.C. Rhodes. 1997. Analysis of the major flavonol glycosides present in four varieties of onion (*Allium cepa*) and changes in composition resulting from autolysis. *J. Sci. Food Agri.* 74:331-339.
- Rall, T.W. and A.L. Lehninger. 1952. Glutathione reductase of animal tissues. *J. Biol. Chem.* 194:119-130.
- Reitman, S. and S. Frankel. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *Am. J. Clin. Pathol.* 28:56-63.
- Rush, G.F., J.R. Gorski, M.G. Ripple, J. Sowinski, P. Bugelski and W.R. Hewitt. 1985. Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 78:473-483.
- Seglen, P.O. 1976. Preparation of isolated rat liver cells. *Methods Cell Biol.* 13:29-83.
- Srivastava, K.C. 1986. Onion exerts antiaggregatory effects by altering arachidonic acid metabolism in platelets. *Prostaglandines Leukot. Med.* 24:43-50.
- Steel, R.G.D. and J.H. Torre. 1980. Principles and Procedures of Statistics. 2nd ed, McGraw-Hill, New York. pp.186-187.
- Sunderman, F.W. Jr., A. Marzouk, S. Hopfer, O. Zaharia and M.C. Reid. 1985. Increased lipid peroxidation in tissues of nickel chloride-treated rats. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 15: 229-236.
- Tseng, T.H., C.J. Wang, E.S. Kao and H.Y. Chu. 1996. Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by tert-butyl hydroperoxide in rat primary hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* 101:137-148.
- Uchiyama, M. and M. Mihara. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 86:271-278.
- Vassault, A. 1983. Lactate dehydrogenase: UV-method with pyruvate and NADH. In Bergmeyer, H.U., J. Bergmeyer and M. Grassl (eds) *Methods of Enzymatic Analysis. III. Enzymes 1: Oxidoreductases, Transferases.* Verlag-Chemie, Weinheim. pp.118-126.

(접수일 2005. 2. 3)

(수락일 2005. 3. 25)