

삼채 보충식이 당뇨병 쥐 간의 항산화효소 함량에 미치는 영향

김 명 화[†]

덕성여자대학교 식품영양학과

Effects of Dietary Supplementation with *Allium hookeri* Root on Hepatic Enzyme Contents in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Myung-Wha Kim[†]

Dept. of Food and Nutrition, Duksung Women's University, Seoul 01369, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to examine the effect of *Allium hookeri* (AH) root on hepatic antioxidative enzyme contents in streptozotocin (STZ)-induced rats. Diabetes mellitus was induced in male Sprague-Dawley rats through injection of STZ dissolved in citrate buffer into tail veins at a dose of 45 mg/kg body weight. Sprague-Dawley rats were fed an AIN-93 recommended diet, and the experimental groups were fed a modified diet containing 5% and 10% of AH root powder for 4 weeks. The experimental groups were divided into four groups: a normal control (N-control), STZ-control, STZ-AH 5%, and STZ-AH 10% supplemented groups. The STZ-AH 5% group showed a significant increase in liver glycogen compared to the STZ-control group. Muscle glycogen and liver protein contents significantly increased in the AH-supplemented groups compared to the STZ-control group. The liver malondialdehyde content of the AH-supplemented group was significantly lower than that of the STZ-control group. Xanthine oxidase content was significantly reduced in all experimental groups. Glutathione-S-transferase content was significantly elevated in the AH-treated groups compared to the STZ-control group. Superoxide dismutase content was not significantly different among the experimental groups. Catalase content was significantly higher in the STZ-AH 10% group compared to the STZ-control group. These results show that supplementation with AH root may be useful for diabetic therapy and damage from oxidative stress.

Key words: *Allium hookeri* root, STZ-induced rats, malondialdehyde, hepatic enzyme contents

서 론

한국인의 건강한 삶에 가장 큰 위협이 되는 질병은 당뇨병으로 2013년 건강계측연구소에서 발표된 전 세계 질병부담 순위와도 큰 차이를 보이지 않았다(Yoon JH & Yoon SJ 2013). 이는 당뇨병이 암에 비해 치명적인 질병은 아니지만, 완치가 힘들어 평생 관리를 하면서 살아가야 하기 때문이다. 불균형한 식생활 환경 개선은 당뇨병 이환율과 사망률 증가와 막대한 사회비용을 줄이고, 21세기 당뇨병으로 인한 사망률을 감소시키는데 중요한 요소이다. 당뇨병 고혈당과 산화적인 스트레스는 체내 방어 작용과 지속적인 식이요법 관리가 필수적이다.

당뇨 시 유리기(free radical)는 활성산소종(reactive oxygen species; ROS), 활성질소종(reactive nitrogen species) 및 활성염소종(reactive chlorine species)에 의해 생성되어 항산화 방

어체계에 영향을 준다(Ullah A 등 2016). 효소와 비효소적인 반응에 의하여 형성된 ROS는 정상적인 상태에서 항상 생성되며, super oxide anion(O₂⁻), hydroxyl radical(·OH), hydrogen peroxide(H₂O₂), hydrogen peroxide radical(·OOH) 등으로 세포는 ROS에 대항하여 산화적 스트레스를 입게 된다(Baynes JW 1991). 이렇게 생성된 ROS의 부적절한 체내 작용으로 지방산의 산화와 허혈성 심장질환 같은 합병증을 유발하여 당뇨병으로 인한 사망률을 높이는 원인이 된다(Bikkad MD 등 2014). 당뇨병의 경우, 고혈당과 높은 지질과산화물 등에 의한 산화적 스트레스의 발생을 억제하거나, 생성된 ROS를 제거할 수 있는 phytochemical(Kim KH 등 2012; Lee KW 등 2014)은 합성 항산화제에 비해 부작용이 적을 뿐만 아니라, 항산화와 면역기능조절 등의 질병관리에 효과적인 식품 및 대체식품으로서 효능과 유효성분에 대한 관심이 높아지고 있다(Roslan J 등 2017).

삼채(*Allium hookeri*; AH)는 백합과(Liliaceae) 식물로 부추와 마늘과 같이 파속(*Allium* L.)에 속하며, *Allium* 속 식물은 세계적으로 대략 700여 종으로 이루어져 있고(Martin-Gallán P

[†] Corresponding author : Myung-Wha Kim, Tel: +82-2-901-8598, Fax: +82-2-901-8372, E-mail: kmw7@duksung.ac.kr

등 2003), 생물학적 및 약리학적 활성 효과가 큰 식품이다 (Borborah K 등 2014). 당뇨병자의 30%가 자연 식품을 이용한 대체요법(Raman BV 등 2012)을 사용하고 있으며, 삼채는 우리나라에서 다양한 요리재료 및 마시는 차 등의 건강식품 형태로 이용되고 있다(Jun HI 등 2014). *Allium* 속 식물인 삼채의 allicin과 alkyl thiosulfinate의 함유화합물은 혈당강화와 항산화 등의 다양한 생리활성을 동물실험에서 갖는 것으로 알려져 있다(Rhyu DY & Park SH 2013; Roh SS 등 2016). 삼채 추출물은 항산화 활성과 유리기를 낮추어(Yang HS 등 2016) 혈액의 순환을 좋게 하며, 당뇨 등의 질병상태를 완화해 줄 뿐만 아니라, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능과 NO 생성억제 효과, 그리고 항산화 효능을 보고된 바 있다(Lee EB 등 2015). 이러한 선행연구에도 불구하고, 아직까지 국내산 삼채에 대한 당뇨와 관련된 연구는 여전히 부족한 실정이다.

이에 선행연구(Kim MW 2016)에서는 한국산 삼채 뿌리를 실험시료로 하여 혈당 함량에 미치는 영향에 관한 연구결과, 삼채뿌리 분말첨가 시 혈당 함량이 낮아졌다. 이어서 본 실험에서는 streptozotocin(STZ) 당뇨 유발 흰쥐의 간 세포질에서 항산화효소 함량을 측정하여 당뇨 시 식사요법에서 항산화 식재료로 활용하고자 하였다.

연구방법

1. 실험 재료

본 실험에서 시료로 사용한 삼채(*Allium hookeri*) 뿌리는 서울시 동대문구 제기2동에 있는 용성건재(사업자등록번호 204-92-77858)로부터 구입하였다. 우리나라 경상북도 영주군 상출동 104-4에서 야생 재배하여 2015년 7월에 수확한 것을 자연 건조시켜 뿌리를 분말(HMF-3450S, Hanil, Seoul, Korea)로 만들어 냉장 보관한 후 실험시기에 시료로 사용하였다.

2. 실험동물 사육 및 실험식이

실험동물은 체중 220 g 내외로 7주령인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 주식회사 샘타코 BIO KOREA(NTacSam: SD, Osan, Korea)로부터 구입하여 stainless steel cage에 한 마리씩 넣고, 온도 22±2°C에서 고품 사료(Feedlap, Guri, Korea)로 1주일간 예비 사육하였다. 본 동물 실험은 덕성여대 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 2015-017-001)을 받은 후, 실험동물 관리 및 이용에 관한 지침에 맞추어 실시하였다. 실험동물은 난괴법에 의해 4개 군으로 나누어 사용하였다. 실험군은 정상대조군 1개 군과 STZ으로 당뇨를 유발한 당뇨 실험군 3개 군으로 각 군별로 7마리씩 총 28마리를 사용하였다. 정상 대조군에는 삼채뿌리를 첨가하지 않은 normal-control

(N-control), 당뇨 실험군에는 삼채뿌리를 첨가하지 않은 당뇨대조군(STZ-control)과 삼채뿌리를 분말로 하여 각각 5%(STZ-AH 5%)와 10%(STZ-AH 10%)를 첨가하여 실험하였다. 삼채는 향기가 강한 특성을 가지고 있어서 실험동물들이 섭취할 수 있도록 10% 이하로 식이를 조정하였다(Lee SH 등 2015). N-control과 STZ-control은 AIN-93 조제식이(Reeves PG 1997)로 공급하였고, 당뇨실험군의 식이는 AIN-93 조제식이를 변형하여 삼채뿌리 분말을 5%와 10%씩 첨가하여 각각의 해당 식이로 4주간 공급하였으며, 실험식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다(Table 1). 삼채뿌리의 영양 조성은 100 g 당 탄수화물 11.36 g, 단백질 2.60 g, 지방 1.34 g, 회분 1.07 g, 식이섬유 5.07 g, 수분 78.57 g으로 실험식이 내 corn starch, casein, soybean oil, fiber 및 무기질의 조성을 조정하여 실험군간에 식이조성이 동일하도록 하였다(Park JY & Yoon KY 2014; Ayam VS 2011).

3. 당뇨유발

실험의 당뇨를 유발시키기 위하여 16시간 금식시킨 후 STZ(Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, USA)을 45 mg/kg body weight 농도로 꼬리정맥에 주입하였다. N-control은 0.01 M

Table 1. Composition of control and experimental diets
(g/kg diet)

Components	Control diet ¹⁾	Experimental diet ²⁾	
		5%	10%
Corn starch	465.692	439.192	412.692
Casein	140.000	133.900	127.900
Dextrinized corn starch	155.000	155.000	155.000
Sucrose	100.000	100.000	100.000
Soybean oil	40.000	36.900	33.800
Fiber	50.000	38.200	26.300
Mineral mix ³⁾	35.000	32.500	30.000
Vitamin mix ⁴⁾	10.000	10.000	10.000
L-Cystine	1.800	1.800	1.800
Choline bitartrate	2.500	2.500	2.500
Tert-butylhydroquinone	0.008	0.008	0.008
<i>Allium hookeri</i> root	-	50.000	100.000

¹⁾ Control diet : AIN-93 diet.

²⁾ Experimental diet: control diet + *Allium hookeri* (AH) root powder.

³⁾ AIN-93 mineral mixture.

⁴⁾ AIN-93 vitamin mixture.

citrate buffer 용액을 동량으로 하여 당뇨 실험군과 같은 방법으로 주사하였다. 당뇨 유발의 확인은 24시간 후 안구정맥 총에서 채혈하여 원심분리한 후 상등액을 취하여 혈장 중의 포도당 농도가 300 mg/dL 이상인 동물을 당뇨가 유발된 것으로 확인하여 당뇨 유발일을 실험 0일로 하여 당뇨 실험에 사용하였다.

4. 생화학적 분석

실험 4주후 공복시키지 않고 실험동물을 에테르로 마취시켜서 단두로 희생시킨 후, 즉시 개복하여 간을 적출하여 무게를 측정 후 -70°C 에 냉동 보관하여 생화학적인 분석과 항산화효소 함량을 측정하였다.

1) 글리코겐, 단백질 및 지질과산화물

간과 근육의 글리코겐 함량은 Hassid와 Abraham 방법(Hassid WZ & Abraham X 1978)에 의해 620 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 포도당액과 비교하여 정량하였다. 간의 지질과산화물(malondialdehyde; MDA)의 함량은 Mihara와 Uchiyama 방법(Mihara M & Uchiyama M 1957)에 따라 535 nm에서와 520 nm에서 흡광도의 차이를 계산하였고, 이를 nmol/mg protein으로 나타내었다. 간의 단백질 함량은 1.15% KCl 용액으로 균질화한 후, Lowry 방법(Lowry OH 등 1951)에 따라 단백질 함량을 정량하였다.

2) 항산화효소

항산화효소의 분리는 간에 Tris KCl buffer(0.1 M Tris acetate, 0.1 M KCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.4)를 첨가하여 마쇄한 후 얻은 균질액을 8,000×g에서 30분간 원심분리(model RC 5C, DuPont sorvall instrument, Wilmington, DE, USA)한 후 1차 상등액을 얻었다. 1차 상등액을 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 2차 상등액을 얻었다. 2차 상등액을 취하여 105,000×g에서 90분간 초원심분리(L-80, Beckman Co. Ltd, Setauket-East Setauket, NY, USA)시켜 세포질 분획을 수집한 후 -70°C 에 저장하여 항산화효소 함량을 분석하였다.

Xanthine oxidase(XOD) 분석은 Bergmeyer 등의 방법(Bergmeyer HU 등 1974), glutathione-S-transferase(GST)의 함량은 Habig 등의 방법(Habig WH 등 1974), superoxide dismutase(SOD)는 Maklund와 Marklund(Maklund S & Marklund G 1974)의 방법 그리고 catalase(CAT)의 함량은 Aebi 방법(Aebi H 1984)에 따라 분석하였다. Glutathione reductase(GR)은 340 nm에서 흡광도 감소속도를 측정하여 NADPH의 분자흡광도 계수를 적용하여 분석하였다(Mavis RD & Stellwagen E 1968). Glutathione peroxidase(GPX)의 함량은 Lawrence와 Burk의 방법(Lawrence RA & Burk RF 1976)에 따라 cumene hydrope-

roxide를 기질로 하여 시행하였다. 글루타티온이 cumene hydroperoxide와 반응하여 산화형 글루타티온이 형성되고, NADPH를 산화시키면서 글루타티온으로 환원되므로 340 nm에서 NADPH 환원량을 측정하여 계산하였다.

5. 통계처리

모든 실험 데이터는 SPSS(version 23) package형으로 통계 처리하였고, 분석 수치는 평균과 표준편차(standard deviation: SD)로 처리하였다. 실험군 간의 차이는 one way analysis of variance(ANOVA)로 검증하였고, 각 실험군 간의 평균값의 차이에 대한 유의성은 Duncan's multiple range test를 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 평가하였다.

결과 및 고찰

1. 간과 근육 중의 글리코겐 함량

STZ으로 당뇨를 유발시킨 흰쥐의 간 글리코겐 함량은 N-control에 비해 유의적으로 낮았다. STZ-control에 비해 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10%의 간 글리코겐 함량은 유의적으로 높았으며, STZ-AH 5%의 간 글리코겐 함량은 N-control군의 간 글리코겐 함량과 유사함을 확인하였다. 당뇨 실험군에서는 STZ-AH 5%에서 가장 높은 함량으로 STZ-control과 유의적인 차이를 보였고, STZ-AH 10%에서는 STZ-control보다 높은 함량이었으나 유의적인 차이는 아니었다. 근육 중의 글리코겐 함량은 간의 글리코겐과 유사하게 N-control에서 높은 함량이었으며, STZ-control과 유의적인 차이를 보였다. STZ-control에서 가장 낮은 함량으로 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10% 모두에서 높게 나타났으며, 유의적인 차이를 보였다(Table 2).

Table 2. Effects of *Allium hookeri* root on liver glycogen and muscle glycogen contents in normal and diabetic rats

Group ¹⁾	Liver glycogen (g/g)	Muscle glycogen (mg/g)
N-control	37.0± 4.8 ^{c2)3)}	481.6±163.0 ^b
STZ-control	13.7± 7.2 ^a	219.7±101.1 ^a
STZ-AH 5%	30.5±16.8 ^{bc}	468.4±240.3 ^b
STZ-AH 10%	20.3± 7.0 ^{ab}	581.3±179.7 ^b

¹⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

²⁾ Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

STZ에 의해 당뇨가 유발된 쥐에서는 간과 골격근 모두 글리코겐 대사에 영향을 받아 당뇨시 간에서 glucose phosphorylation의 촉매역할을 하는 glucokinase 활성이 저하되어 고혈당이 되기 쉬우며, 글리코겐 synthetase 기능도 저해되어 고혈당으로 인한 glucose transport와 글리코겐 합성 과정 중 골격근에서 세포에 손상을 주는 원인이 된다(Roslan J 등 2017). STZ 투여시 인슐린 저항성으로 인해 간의 글리코겐 함량이 낮아진다(Sexton WL 1994). 본 연구에서도 당뇨시 Kamalakkanan 등의 연구(Kamalakkanan N 등 2003)에서와 같이 STZ으로 당뇨를 유발하였을 때 간 글리코겐 함량의 차이를 보였으며 정상시의 글리코겐 함량과 비교하여 유의적으로 낮아졌음을 확인하였다.

근육의 글리코겐은 삼채 첨가시 유의적으로 높아서 STZ-control과 차이를 보였는데 정상시와 비슷한 함량이었으며, 이는 글리코겐 phosphorylase가 활성화되고, 글리코겐의 분해가 증가되어 간의 글리코겐 함량은 감소되고, 근육의 글리코겐은 저장 가능한 상태로 생각된다(Rhee SJ 등 1996).

선행연구(Kim MW 2016) 결과, 당뇨시 삼채뿌리 첨가가 실험 4주째 유의적으로 혈당을 낮추었으므로 글리코겐의 이화작용이 감소되어 근육의 글리코겐 함량에 영향을 주어 본 실험에서 당뇨대조군에 비해 증가한 것으로 보인다.

2. 간의 단백질 함량

간의 단백질 함량은 N-control과 STZ-control에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 당뇨 실험군에서는 STZ-control보다 AH 첨가군 모두에서 유의적으로 높았고, N-control보다 높은 함량이었다(Table 3). 간은 인슐린작용에 중요한 기관(Francés DE 등 2010)으로 당뇨로 인한 산화 스트레스를

Table 3. Effects of *Allium hookeri* root on liver protein and malondialdehyde (MDA) contents in normal and diabetic rats

Group ¹⁾	Protein (mg/mL)	MDA (nmol/mg protein)
N-control	25.7±2.0 ^{a2)3)}	0.51±0.06 ^a
STZ-control	28.0±2.7 ^a	0.94±0.10 ^b
STZ-AH 5%	33.7±7.1 ^b	0.54±0.14 ^a
STZ-AH 10%	34.0±4.3 ^b	0.57±0.09 ^a

¹⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

²⁾ Values are mean±S.D. (n=7).

³⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

받게 된다. 당뇨가 잘 치료되지 않으면 단백질을 에너지원으로 사용하기 위하여 branched chain keto acid dehydrogenase의 활성이 증가되어 단백질의 이화작용이 증가된다(Lombardo YB 등 1999). 일반적으로 AMP-activated protein kinase (AMPK)는 간에서 혈당 함량을 낮추어서 당질로부터 지방산으로 전환하여 에너지를 공급한다(Foretz M 등 2005; Kim JS 등 2015). 삼채는 S-allyl-L-cysteine-sulfoxide 등의 특수한 아미노산과 사포닌을 함유하는 식품(Ayam VS 2011)으로 AMPK 작용을 활성화시켜 유리기에 의한 세포막의 지질과산화물을 줄이며, 당질 생성을 억제하여 간에서 당질과 지방의 항상성을 유지하는데 삼채의 작용이 있을 것으로 추정된다(Foretz M 등 2005; Kim JS 등 2015). 본 연구에서 당뇨시 삼채를 보충하였을 때 간의 단백질 함량이 높아진 것으로 보아 단백질이 이화작용을 다소 늦출 수 있을 것이다.

3. 간의 Malondialdehyde(MDA) 함량

간의 MDA 함량은 N-control보다 STZ-control에서 유의적으로 높게 나타났다. 당뇨실험군에서는 STZ-control의 MDA 함량이 모든 AH 첨가군에서 MDA가 유의적으로 낮았으며, 이는 N-control군의 수치와 유사하게 나타났다(Table 3). 본 연구에서와 같이 여러 선행 연구들(Oyenihi OR 등 2015; Hadjzadeh MA 등 2017)에서도 당뇨시 간 MDA 함량의 증가를 볼 수 있었다. MDA 함량은 ROS에 의해 다가불포화지방산의 과산화를 촉진하여 만들어지는 물질로 만성적인 염증과 고혈압 등의 위험인자로 작용하며, 내당능에 손상을 주어 일반적으로 당뇨가 진전되면 MDA 함량이 높아져 당뇨증상을 악화시킨다(Suryakumar G & Gupta A 2011). MDA의 증가는 인슐린 분비의 작용의 저해와 췌장의 단백질의 함량에도 영향을 준다(Wang X 등 2014). 당뇨시 지속적인 고혈당은 자동 산화와 비효소적인 단백질이 당화를 통해 산소유리의 생성을 증가시킨다. MDA는 다불포화지방산의 산화시 주요하게 작용하는 알데하이드로 산소유리가 막 인지질의 지질과산화를 초래하여 지질산화 생성물인 MDA 함량을 증가시키는데(Wolff SP & Dean RT 1987), 본 연구에서는 삼채 첨가시 MDA 함량이 낮아져 과량의 유리기 형성을 억제하여 항산화방어체계에 작용을 할 것으로 보인다.

4. 항산화 효소

1) Xanthine Oxidase(XOD) 함량

간의 세포질에서 항산화효소 함량을 측정한 결과는 Table 4와 같다. XOD 함량은 N-control보다 STZ-control에서 유의적으로 낮게 나타났으나, 밀겨울의 feruloyl oligosaccharides를 당뇨유발쥐에게 경구투여시(Ou SY 등 2007) 정상군에 비

Table 4. Effects of *Allium hookeri* root on hepatic enzyme contents in cytosol of normal and diabetic rats

Group ¹⁾	XOD ²⁾	GST	SOD	CAT	GR	GPX
	(unit/min/mg protein)					
N-control	62.1±3.5 ⁴⁾³⁾	27.3±1.6 ^d	0.51±0.06 ^a	4.66±2.87 ^{ab}	0.53±0.27	1.04±0.22
STZ-control	59.0±4.4 ^c	16.5±0.8 ^a	0.92±0.14 ^b	3.11±2.30 ^a	0.44±0.20	0.95±0.34
STZ-AH 5%	56.0±3.6 ^b	20.8±0.8 ^b	0.87±0.24 ^b	4.09±2.54 ^{ab}	0.49±0.20	0.92±0.46
STZ-AH 10%	52.3±1.6 ^a	24.1±0.7 ^c	0.78±0.08 ^b	6.30±2.95 ^b	0.54±0.20	0.47±0.37

¹⁾ N-control: normal control group, STZ-control: diabetic control group, STZ-AH 5%: diabetic fed with root of AH 5% treated group, STZ-AH 10%: diabetic fed with root of AH 10% treated group.

²⁾ XOD: xanthine oxidase, GST: glutathione-S-transferase, SOD: superoxide dismutase, CAT: catalase, GR: glutathione reductase, GPX: glutathione peroxidase.

³⁾ Values are mean±S.D.

⁴⁾ Values with different superscripts within the same column are significantly different at the $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

해 당뇨대조군에서 유의적으로 높은 결과를 보였다. STZ 당뇨유발 시 간에서 XOD는 하이포크산틴의 산화를 촉진시키는 촉매 효소로 크산틴의 산화가 증가되어 XOD의 함량이 증가되면, O_2^- 과 H_2O_2 의 생성으로 당뇨 시 염증반응과 케사 등의 원인이 되어 DNA에 변형이 일어난다(Saggu S & Kumar R 2008). 당뇨시 myocytes에서의 ROS 생성이 증가되어 NADPH oxidase와 XOD 작용이 늘어나게 되며, 과잉의 ROS는 유리지방산과 작용하여 MDA 생성도 늘어나게 된다(Moore CJ 등 2013).

당뇨실험군에서는 STZ-control보다 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10% 모두에서 유의적으로 감소하였다. 모든 AH 첨가군은 STZ-control군과 비교하여 dose-dependent한 XOD 함량의 감소를 보였다. 본 연구 결과, XOD 함량이 낮아져 삼채뿌리 섭취가 유리기의 생성을 억제한 것으로 추정된다.

2) Glutathione-S-Transferase(GST) 함량

GST 함량은 N-control에 비해 STZ-control에서는 유의적으로 감소하였고, STZ-control군과 비교하여 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10%의 GST 함량은 유의적으로 증가하였다. 본 실험에서는 삼채로 처리시 GST 함량이 높아졌는데, 여주(*Momordica charantia*) 추출물을 이용한 항산화 스트레스 실험(Tripathi UN & Chandra D 2009)에서도 GST 함량이 당뇨시 높아져, 본 연구와 유사한 결과를 보였다. GST는 산화에 의해 손상되는 세포의 지방 분자를 보호하는 역할과 항산화 스트레스 marker로서 당뇨시 MDA 함량이 높을수록 GST 함량이 낮아졌는데(Sharma M 등 2016), 본 연구에서도 유사한 결과가 분석되었다.

3) Superoxide Dismutase(SOD) 함량

SOD 함량은 N-control보다 STZ-control에서 유의적으로 높

았으며, 당뇨실험군 중 STZ-AH 10%에서 낮아지는 경향을 보였으나, 통계적인 유의성은 검증되지 않았다. SOD는 O_2^- 를 제거하여 H_2O_2 로 전환시키는 촉매효소로 작용한다(Bowler C 등 1992). 삼채는 ROS 생성을 저해하는 효소적 항산화 활성을 보이는 식품으로 대표적인 생화학적 활성 성분인 페놀 성분과 높은 효소적인 SOD 활성에 의해 유리기인 DPPH 생성을 저해한다(Kubola J & Siriamornpun S 2008). Hamissou 등의 연구(Hamissou M 등 2013)에서 삼채가 SOD 활성에 차이를 보였으나, 본 연구에서는 삼채의 생산지역, 건조방법 및 동물투여방법의 차이로 인해 SOD 활성에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

4) Catalase(CAT) 함량

N-control과 STZ-control의 CAT 함량은 유의적인 차이가 없었으나, 비타민나무잎 연구(Kim MW 2013)에서도 유사한 결과를 보였다. 모든 AH 첨가군은 STZ-control과 비교하여 dose-dependent한 CAT 함량의 증가를 보였다. 본 연구 결과는 야생부추(*Allium ampeloprasum*) 추출물을 alloxan 유발 당뇨쥐에게 투여시 MDA와 CAT 함량이 증가하는 것과 유사한 양상을 보인다(Rahimi-Madiseh M 등 2017). CAT 작용이 결핍되면 지나친 ROS 생성으로 인하여 당뇨시 β -세포의 기능이 잘 이루어지지 않는다(Ullah A 등 2016). CAT는 H_2O_2 가 H_2O 로 되는 것을 감소시켜 활성산소를 중화시키는데 촉매역할을 하여 유해산소를 신속히 처리하며, 면역체계의 손상을 막아주고 세포를 보호하여 세포의 항상성을 유지하게 한다. CAT와 SOD는 간에서 공생적인 방어기능을 할 수 있는 효소로 본 실험에서는 SOD 활성에서 뚜렷한 함량 차이를 보이지 않았으나 CAT 함량에서는 STZ-AH 10% 첨가시 유의적인 차이를 보여 산소에 의해 매개되는 손상에 대해 다른 형태의 방어기작을 선택할 것으로 추정된다.

5) Glutathione Reductase(GR) 함량

GR 함량은 N-control과 STZ-control에서 유의적이지 않았으며, 당뇨실험군 간에서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. GR은 직접적으로 과산화물을 소거하지 않으나, 글루타티온의 재생산에 작용하여 세포의 항상성을 유지한다(Jang YS 등 1998). GR의 함량은 Atalay 등의 연구(Atalay M 등 1997)에 의하면 높게, Park 등의 연구(Park SA 등 2006)에서는 GR의 뚜렷한 함량 차이가 없었는데, 본 연구에서도 STZ-control보다 삼채 첨가시 높아지는 함량이었으나, 유의성이 검증되지 않아 온전한 세포의 항상성의 유지를 위한 글루타치온의 재생산 작용이 적을 것이다.

6) Glutathione Peroxidase(GPX) 함량

GPX 함량은 N-control과 STZ-control에서 유의적이지 않았으며, 당뇨실험군 간에도 유의적이지 않았다. GPX는 H₂O₂의 환원시 촉매 역할을 하며, 간에서 제노바이오톡스의 독성을 해독하는데 관여한다(Ting HC 등 2011). 당뇨시 H₂O₂에 의한 효소의 불활성화로 인한 산화적 스트레스에서 삼채첨가로 인하여 낮아졌으나, 표준편차가 커서 ROS 독성 해독에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

요 약

본 연구는 streptozotocin(STZ)으로 당뇨를 유발시킨 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐에게 4주간 삼채(*Allium hookeri*; AH) 뿌리를 식이에 보충한 정상대조군 normal-control(N-control)과 STZ-control, STZ-AH 5%와 STZ-AH 10% 첨가군을 당뇨 실험군으로 하여 삼채의 잠재적인 항산화 식재료로서의 활용성을 확인하였다. 해당식을 4주간 공급한 후, 간과 근육의 글리코겐, 간의 단백질과 MDA, 간의 세포질에서 XOD, GST, SOD, CAT, GR 및 GPX의 항산화효소 함량을 분석하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

간의 글리코겐 함량은 N-control에 비해 STZ-control에서 유의적으로 낮았고, 당뇨실험군에서는 STZ-AH 5%에서 STZ-control보다 유의적으로 높은 함량 차이를 보였다. 근육의 글리코겐 함량은 N-control에 비해 STZ-control에서 유의적으로 낮았고, STZ-control에 비해 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10%에서 유의적으로 높은 차이였다. 간의 단백질 함량은 N-control과 STZ-control에서는 유의적인 차이를 보이지 않았으나, STZ-control보다 STZ-AH 첨가군 모두에서 유의적으로 높았다. 간의 MDA 함량은 N-control보다 STZ-control에서 유의적으로 높은 함량이었으며, STZ-control보다 STZ-AH 첨가군 모두에서 낮은 함량이었다.

간의 세포질에서 측정된 XOD 함량은 N-control과 STZ-

control은 유의적인 차이를 보였고, 당뇨실험군에서는 STZ-control보다 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10% 첨가군 모두에서 유의적으로 낮은 함량 차이를 보였다. GST 함량은 N-control에 비해 STZ-control에서는 유의적으로 낮았고, STZ-control보다 STZ-AH 5%와 STZ-AH 10% 첨가군 모두에서 유의적으로 높은 함량이었다. SOD는 N-control과 STZ-control에서 유의적인 함량 차이를 보였으나, 당뇨실험군 간에는 STZ-control과 유의성을 보이지 않았다. CAT는 N-control과 STZ-control에서 유의적인 차이는 아니었으나, STZ-control과 비교하여 STZ-AH 10%에서 유의적으로 높은 함량 차이를 보였다. GR과 GPX 함량에서는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

이상의 연구결과, 삼채뿌리 분말을 식이로 첨가하였을 때 당뇨시 간과 근육의 글리코겐과 간의 단백질 함량이 높아졌고, MDA 함량은 낮아졌다. 효소 함량은 XOD에서 낮아졌고, CAT와 GST에서 높아지는 경향이었다. 삼채는 STZ에 의한 포도당의 과부하에 의해 증가된 과산화물의 생성억제와 조직 내 세포의 산화적 스트레스 감소작용으로 생체내 항산화 방어력을 증가시킬 수 있으며, 당뇨 예방 및 치료를 위한 식사요법에 이용 가능한 식품으로 사료된다.

감사의 글

2016년도 덕성여자대학교 교내 연구비 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Aebi H (1984) Catalase *in vitro*. Methods Enzymol 105: 121-126.
- Atalay M, Laaksonen DE, Niskanen L, Uusiyupa M, Hanninen O, Sen CK (1997) Altered antioxidant enzyme defence in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. Acta Physiol Scand 161 (2): 195-201.
- Ayam VS (2011) *Allium hookeri*, Thw. Enum. a lesser known terrestrial perennial herb used as food and its ethnobotanical relevance in Manipur. AJFAND 11(6): 5389-5412.
- Baynes JW (1991) Role of oxidative stress in the development of complication in diabetes. Diabetes 40(4): 405-421.
- Bergmeyer HU, Gawehn K, Grassl M (1974) In The Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeter HU ed.). Academic Press Inc 1(2): 521-522.
- Bikkad MD, Somwanshi SD, Ghuge SH, Nagane NS (2014) Oxidative stress in type II diabetes mellitus. Biomed Res

- 25(1): 84-87.
- Borborah K, Dutta B, Borthakur SK (2014) Traditional uses of *Allium* L. species from North East India with special reference to their pharmacological activities. *Am J Phytomed Clin Ther* 2(8): 1037-1051.
- Bowler C, Montagu MV, Inze D (1992) Superoxide dismutase and stress tolerance. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 43: 83-116.
- Foretz M, Ancellin N, Andreelli F, Saintillan Y, Grondin P, Kahn A, Thorens B, Vaulont S, Viollet B (2005) Short-term overexpression of a constitutively active form of AMP-activated protein kinase in the liver leads to mild hypoglycemia and fatty liver. *Diabetes* 54(5): 1331-1339.
- Francés DE, Ronco MT, Monti JA, Ingaramo PI, Pisani GB, Parody JP, Pellegrino JM, Sanz PM, Carrillo MC, Carnovale CE (2010) Hyperglycemia induces apoptosis in rat liver through the increase of hydroxyl radical: New insights into the insulin effect. *J Endocrinol* 205(2): 187-200.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) Glutathione-S-transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249(22): 7130-7139.
- Hadjzadeh MA, Rajaei Z, Khodaei E, Malek M, Ghanbari H (2017) *Rheum turkestanicum* rhizomes possess anti-hypertriglyceridemic, but not hypoglycemic or hepatoprotective effect in experimental diabetes. *Avicenna J Phytomed* 7(1): 1-9.
- Hamissou M, Smith AC, Carter Jr JE, Triplett II JK (2013) Antioxidative properties of bitter gourd(*Momordica charantia*) and zucchini(*Cucurbita pepo*). *Emir J Food Agric* 25(9): 641-647.
- Hassid WZ, Abraham X (1957) Chemical procedures for analysis of polysaccharides. In *Methods in Enzymology*. Academic press, New York, USA 3: 34-50.
- Jang YS, Ahn HS, Kim HR (1998) Effects of vitamin E supplementation on the lipid peroxides and activities of antioxidative enzymes in the pancreas of diabetic KK mice. *Kor J Nutr* 31(2): 153-158.
- Jun HI, Park SY, Jeong DY, Song GS, Kim YS (2014) Quality properties of yogurt added with hot water concentrates from *Allium hookeri* root. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 43(9): 1415-1422.
- Kamalakkanan N, Rajadurai M, Prince PS (2003) Effect of *Aegle marmelos* fruits on normal and streptozotocin-diabetic wistar rats. *J Med Food* 6(2): 93-98.
- Kim JS, Heo JS, Choi JW, Kim GD, Sohn KH (2015) *Allium hookeri* extract improves type 2 diabetes mellitus in C57BL/KSJ db/db obese mouse via regulation of hepatic lipogenesis and glucose metabolism. *J Life Sci* 25(10): 1081-1090.
- Kim KH, Kim HJ, Byun MW, Yook HS (2012) Antioxidant and antimicrobial activities of ethanol extract from six vegetables containing different sulfur compounds. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 41(5): 577-583.
- Kim MW (2013) Effect of Sea Buckthorn leaves on hepatic enzyme levels in streptozotocin induced diabetic rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 42(1): 40-45.
- Kim MW (2016) Effect of *Allium hookeri* root on plasma blood glucose and fat profile levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *J East Asian Soc Diet Life* 26(6): 481-490.
- Kubola J, Siriamornpun S (2008) Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd(*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts *in vitro*. *Food Chem* 110(2008): 881-890.
- Lawrence RA, Burk RF (1976) Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Comm* 71(4): 952-958.
- Lee EB, Kim JH, Yang JH, Kim YS, Jun YI, Ki BH, Lee SH, Kim YS, Han SC, Kim DK (2015) Antioxidant and longevity properties of the root of *Allium hookeri* in *Caenorhabditis elegans*. *Kor J Pharmacogn* 46(3): 234-242.
- Lee KW, Kim YS, Park PJ, Jeong JH (2014) Comparison of effect of water and ethanolic extract from roots and leaves of *Allium hookeri*. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 43(12): 1808-1816.
- Lee SH, Kim NS, Choi BK, Jang HH, Kim JB, Lee YM, Kim DK, Lee CH, Kim YS, Yang JH, Kim YS, Kim HJ, Lee SH (2015) Effects of *Allium hookeri* on lipid metabolism in type II diabetic mice. *Kor J Pharmacogn* 46(2): 148-153.
- Lombardo YB, Serdikoff C, Thamocharan M, Paul HS, Adibi SA (1999) Inverse alterations of BCKA dehydrogenase activity in cardiac and skeletal muscles of diabetic rats. *Am J Physiol* 277(4 Pt 1): E685-E692.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193(1): 265-275.
- Maklund S, Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem*

- 47(3): 467-474.
- Martin-Gallán P, Carrascosa A, Gussinyé M, Dominguez C (2003) Biomarkers of diabetes-associated oxidative stress and antioxidant status in young diabetic patients with or without subclinical complications. *Free Radic Biol Med* 34 (12): 1563-1574.
- Mavis RD, Stellwagen E (1968) Purification and subunit structure of glutathione reductase from baker's yeast. *J Biol Chem* 243(4): 809-814.
- Mihara M, Uchiyama M (1978) Determination of malondialdehyde precursor in urine by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem* 86(1): 271-278.
- Moore CJ, Shao CH, Nagai R, Kutty S, Singh J, Bidasee KR (2013) Malondialdehyde and 4-hydroxynonenal adducts are not formed on cardiac ryanodine receptor(RyR2) and sarco (endo) plasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase(SERCA2) in diabetes. *Mol Cell Biochem* 376(1-2): 121-135.
- Oyenihni OR, Brooks NL, Oguntibeju OO (2015) Effects of kolaviron on hepatic oxidative stress in streptozotocin induced diabetes. *BMC Complement Altern Med* 15(1): 236-242.
- Ou SY, Jackson GM, Jiao X, Chen J, Wu JZ, Huang XS (2007) Protection against oxidative stress in diabetic rats by wheat bran feruloyl oligosaccharides. *J Agric Food Chem* 55(8): 3191-3195.
- Park JY, Yoon KY (2014) Comparison of the nutrient composition and quality of the root of *Allium hookeri* grown in Korea and Myanmar. *Kor J Food Sci Technol* 46(5): 544-548.
- Park SA, Choi MS, Jung UJ, Kim MJ, Kim DJ, Park HM, Park YB, Lee MK (2006) *Eucommia ulmoides* olive leaf extract increases endogenous antioxidant activity in type 2 diabetic mice. *J Med Food* 9(4): 474-479.
- Rahimi-Madiseh M, Heidarian E, Kheiri S, Rafeian-Kopaei M (2017) Effect of hydroalcoholic *Allium ampeloprasum* extract on oxidative stress, diabetes mellitus and dyslipidemia in alloxan-induced diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 86: 363-367.
- Raman BV, Krishna NV, Rao NB, Saradhi PM, Rao BMV (2012) Plants with antidiabetic activities and their medicinal values. *Int Res J Pharm* 3(3): 11-15.
- Reeves PG (1997) Components of the AIN-93 diets as improvements in the AIN-76A diet. *J Nutr* 127(5): 838-841.
- Rhee SJ, Choe WK, Cha BK, Yang JA, Kim KY (1996) Effects of vitamin E and selenium on the antioxidative defense system in streptozotocin-induced diabetic rats. *Kor J Nutr* 29(1): 22-31.
- Rhyu DY, Park SH (2013) Characterization of alkyl thiosulfinate in *Allium hookeri* root using HPLC-ESI-MS. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 56(4): 457-459.
- Roh SS, Kwon OJ, Yang JH, Kim YS, Lee SH, Jin JS, Jeon YD, Yokozawa T, Kim HJ (2016) *Allium hookeri* root protects oxidative stress-induced inflammatory responses and β -cell damage in pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Complementary Alter Med* 16(1): 63-72.
- Roslan J, Giribabu N, Karim K, Salleh N (2017) Quercetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the heart of streptozotocin-nicotinamide-induced adult male diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 86: 570-582.
- Saggu S, Kumar R (2008) Effect of sea buckthorn leaf extracts on circulating energy fuel, lipid peroxidation and antioxidant parameters in rats during exposure to cold, hypoxia and restraint(C-H-R) stress and post stress recovery. *Phytomed* 15(6-7): 437-446.
- Sexton WL (1994) Skeletal muscle vascular transport capacity in diabetic rats. *Diabetes* 43(2): 225-231.
- Sharma M, Gupta S, Singh K, Mehndiratta M, Gautam A, Kalra OP, Shukla R, Gambhir JK (2016) Association of glutathione-S-transferase with patients of type 2 diabetes mellitus with and without nephropathy. *Diabetes Metab Syndr* 10(4): 194-197.
- Suryakumar G, Gupta A (2011) Medicinal and therapeutic potential of sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol* 138(2): 268-278.
- Ting HC, Hsu YW, Tsai CF, Lu FJ, Chou MC, Chen WK (2011) The *in vitro* and *in vivo* antioxidant properties of seabuckthorn(*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil. *Food Chem* 125(2): 652-659.
- Tripathi UN, Chandra D (2009) The plant extracts of *Momordica charantia* and *Trigonella foenum graecum* have antioxidant and anti-hyperglycemic properties for cardiac tissue during diabetes mellitus. *Oxid Med Cell Longev* 2(5): 290-296.
- Ullah A, Khan A, Khan I (2016) Diabetes mellitus and oxidative stress: A concise review. *Saudi Pharm J* 24(5): 547-553.
- Wang X, Lei XG, Wang J (2014) Malondialdehyde regulates glucose-stimulated insulin secretion in murine islets via TCF7L2-dependent Wnt signaling pathway. *Mol Cell Endocrinol* 382(1): 8-16.

Wolff SP, Dean RT (1987) Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. *Biochem J* 245(1): 243-250.

Yang HS, Choi YJ, Jin HY, Lee SC, Huh CK (2016) Effects of *Allium hookeri* root water extracts on inhibition of adipogenesis and GLUT-4 expression in 3T3-L1 adipocytes. *Food Sci Biotechnol* 25(2): 615-621.

Yoon JH, Yoon SJ (2013) Quantifying burden of disease to measure population health in Korea. *J Kor Med Sci* 31 (Suppl 2): S101-S107.

Date Received	May 11, 2017
Date Revised	Jun. 29, 2017
Date Accepted	Aug. 4, 2017