2003 추계학술발표회 논문집
한국원자력학회

염생식물 추출물 처리에 따른 방사선 방어 효과 검증

Dietary Supplementation of Extracts from a Halophyte Affects the Level of the Circulating Enzymes in Irradiated Rats

김진규, 이병헌
한국원자력연구소
대전광역시 유성구 덕진동 150

김지향, 윤용달
한양대학교
서울시 성동구 행당동 17

요 약

염생식물인 퉁퉁마디 (*Salicornia herbacea*)의 열수 및 에탄올 추출물의 방사선 방어 효과를 확인하였다. 이 식물은 다량의 미네랄을 함유하고 있어, 여러 성인병 (당뇨, 천식, 변비 등)에 민간 식이요법으로 많이 이용되는 것이다. 따라서 이 식물의 항산화 효과를 확인하고, 방사선 방어제로서의 기능을 확인하고자 실험을 계획하엿다. 3주령의 미성숙 흰쥐를 이용하여 추출물 처리 및 방사선 조사에 따라 변화를 확인하였다. DPPH assay를 통해 각 추출물의 항산화 효과를 ascorbic acid와 비교 확인하였고, 이를 토대로 흰쥐에 방사선 조사전 5일간 구강투여하였다. 감마선 조사 후 6시간이 지난 후에 각 기관을 채취하여 무게변화를 확인하였고, 혈액을 통해 여러 효소의 혈액내 누출량을 조사하였다. DPPH assay 결과 함초의 각 추출물은 ascorbic acids에 미치는 수준은 아니나 기존에 알려져 있는 caffeine 등과 같은 항산화제보다는 우수한 소거능을 나타내었다. 무게변화는 실험군간 유의한 차이를 보이지 않았다. 혈액내 효소량의 차이도 실험군간 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 열수추출물을 선처리하고 방사선을 조사한 군의 경우에는 기저수준과 거의 유사한 수치를 보였다. 결과적으로 함초는 높은 항산화력을 보여 방사선 방어제로서 기능할 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract

Extracts from *Salicornia herbacea* with two extraction methods (using water or ethanol) were examined for their potential as a radioprotector. This plant accumulates a great amount of salt, Mg, Ca, Fe, and K and thus contains high levels of mineral in its body. It is famous as a remedial material for the constipation and glycosuria in folk medicine. The present study was designed to explore the *in vivo* antioxidant effects of water- and ethanol-extracts of *S. herbacea*. Both extracts of the plants were tested for their free radical scavenging activity with the DPPH assay. For the *in vivo* studies, male F344 rats (3 week-old) received *p o* administration of both extracts 0.5 mg/ml during 5 days before whole-body irradiation. Six hours after irradiation, we measured the body and organ weight and collected blood. The levels of serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase (ALP) showed a similar pattern six hours after irradiation. In case of the water extract-dietary group after irradiation, the levels of all enzymes had a tendency to decrease toward to the base level. Therefore, the results reflects the antioxidant activity of *S. herbacea* extracts and its potential to protect against radiation damage.

1. 서 론

퉁퉁마디 (*Salicornia herbacea*, glasswort)는 명아주과에 속하는 1년생 식물로서 우리나라 서해안 및 남해안에서 자생한다. 개벌에 서식하는 특징적인 염생식물로서 저위염습지, 하구의 간조대, 폐염전 등에 군락을 형성하고 있으며 염스트레스에 대해 내성을 갖는 특징이 있다. 기존의 보고에 따르면 염분농도에 따른 퉁퉁마디의 생존율을 측정한 결과 40% 정도의 염화나트륨 범위의 염분농도에도 적응할 수 있는 것으로 보고되어 있으며, 생육기간 중 일정한 수분상태를 유지하기 때문에 내염의 범위가 넓다고 하였다 [1]. 또한 퉁퉁마디는 염류를 흡수하여 체내에 저장하는 능력을 가지고 있다. 다량의 천연 미네랄을 함유하는 것으로 알려져 있으며, 최근 연구에 따르면 퉁퉁마디가 포함하는 칼슘의 양은 시금치의 5배, 칼륨의 경우에는 시금치에 비해 29배를 함유한다 [2]. 또한 당뇨, 천식, 변비 등에 효과적인 것으로 민간 식이요법으로 예부터 알려졌다 [3]. 그러나 퉁퉁마디의 생체내 기능에 대한 정확한 연구는 이루어지지 않은 상태이다. 따라서 항산화제로서 퉁퉁마디의 효능을 평가하고 방사선 방어제로서의 생체내 효과를 알아보고자 실험을 수행하였다.

2. 실험 방법

퉁퉁마디의 경우 충청남도 보령 일원에서 자생하는 퉁퉁마디를 2003년 6월 초에 채취하여 70℃에서 열풍건조, 마쇄하여 사용하였다 [4]. 각 건분 100 g을 10배에 해당하는 증류수로 현탁시켜 95℃에서 2시간씩 추출한 후 12,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 상등액을 취하였으며 잔사를 이용하여 2회 더 반복하였다. 추출액은 감압농축 후 동결건조 하였으며 퉁퉁마디의 경우 동결건조 전에 실온(24℃)에서 48시간 투석 (M.W. 12,400)을 2회 실시하였다.

DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)를 이용하여 항산화 활성을 측정하였다 [5]. 0.1 mM DPPH를 메탄올에 녹인 후 적절하게 에탄올에 희석한 시료를 혼합하였다. 상온에서 30분간 반응 시킨 후 흡광계를 이용하여 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 퉁퉁마디 각 추출물에 대한 비교군으로 아스코빅산 및 카페인을 함께 측정하였다.

미성숙 수컷 흰쥐를 대한바이오링크에서 구입하여 실험동물로 이용하였다. 한국원자력연구소내의 사육실에서 고형사료와 물을 충분히 공급한 상태로 10/14시간 (명/암)의 조명조건 하에서 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

하루에 두 번씩 구강투여를 통해 생리식염수에 녹인 추출물을 0.5 mg/ml의 농도로 투여하였다. 양성대조군으로 아스코빅산을 구강투여 하였다 [6]. 5일간 투여한 후 6.5 Gy의 감마선에 노출시켰다. 조사선량은 Kim et al.에 의해 설정된 선량-반응식을 기준으로 단기간 내에 손상이 확인된 선량을 조사하였다 [7]. ^{60}Co 선원의 강도는 약 1.5×1014 Bq, 선량율은 1282.6768 rad/hour 이며, 총 6.5 Gy를 조사하였다. 감마선 조사 6시간 후에 모든 실험군을 경추파괴로 도살하여 체중 및 기관의 무게를 측정하였다. 혈액을 모아서 혈청내 적혈구, 백혈구, 헤모글로빈 및 주요 효소 수준 등의 수치를 비교하였다.

각 실험군 간의 결과에 대한 유의성 결정은 분산 분석 (ANOVA) 및 Student's t test를 수행하였다. p 값이 0.05 보다 작은 경우를 유의한 것으로 간주하였다.

3. 결과 및 논의

염생식물로서 채내 다량의 미네랄을 함유하고 있는 퉁퉁마디를 열수 및 에탄올 추출을 하였다. 활성 라디칼의 소거능을 알아보기 위한 DPPH test 결과는 figure 1에 나타내었다. 아스코빅산은 0.0195 mg/ml에서 94%의 소거능을 보였으나, 카페인의 경우에는 20mg/ml의 농도에서 56% 소거능을 나타내었다. 퉁퉁마디 열수추출물과 에탄올 추출물의 경우에는 0.5 mg/ml에서 각각 89.6%와 95.5%의 소거능을 보여서 카페인에 비해 활성 라디칼의 소거능은 우수한 것으로 나타났다. 그러나 DPPH 소거능이 생체내 실제 항산화력을 직접적으로 보여주는 것이 아니기 때문에, 생체내 효과에 대한 실험을 추가적으로 실시하였다. 미성숙 수컷 흰쥐에 DPPH 결과를 바탕으로 0.5 mg/ml의 농도를 생리식염수

에 녹여서 하루에 두 번 구강투여한 후 방사선에 조사한 결과하였다. 6시간 후 체중에 대한 각 기관의 무게 변화는 실험군간 큰 차이를 보이지 않았다 (table 1). 혈액내 효소 수준을 측정한 결과 전체 실험군이 유의한 차이를 보이지는 않았으나, 퉁퉁마디의 열수 추출물을 선처리하고 방사선을 조사한 실험군에서 다른 방사선 조사군보다 낮은 수준을 보였다. 이는 4가지 효소의 실험결과 동일하게 나타났다 (table 2). 백혈구 수치를 확인한 실험에서는 퉁퉁마디의 에탄올 추출물 선처리 후 방사선을 조사한 군에서 대조군과 같은 수준의 백혈구를 확인할 수 있었다 (table 3). 그러나 적혈구 및 헤모글로빈과 같은 지수는 실험군간 차이를 확인할 수 없었다.

퉁퉁마디의 추출물을 이용한 항산화력 및 방사선 방어 효과 평가를 위한 실험에서 퉁퉁마디는 두 추출물이 카페인보다는 우수한 자유 라디칼 소거능을 보였다. 생체 실험결과, 열수 추출물의 경우에는 혈액내 효소 누출량이 현저하게 떨어지는 것을 확인하였고, 에탄올 추출물의 경우에는 방사선 조사후에도 백혈구 수치를 정상 수준으로 유지시켜 주는 것을 확인하였다. 이는 퉁퉁마디 추출물이 방사선을 비롯한 산화적 스트레스로부터 생체 방어에 효과적인 것을 증명한다.

Table 1. organ indices of the experimental group

	CT	R	A	AR	B	BR	C	CR
Li/Body wt	4.34	4.20	4.51	4.49	4.24	4.31	4.60	4.13
Kd/body wt	0.51	0.51	0.51	0.55	0.48	0.53	0.52	0.49
T/Body wt	0.47	0.40	0.44	0.45	0.45	0.44	0.45	0.46
Spl/Body wt	0.33	0.23	0.36	0.21	0.35	0.23	0.33	0.23

Abbrevations; CT, control; R, irradiation; A, ascorbic acid; AR, ascorbic acid + irradiation; B, water-extracts of S. herbacea; BR, water-extracts + irradiation; C, ethanol-extracts of S. herbacea; CR, ethanol-extracts + irradiation.

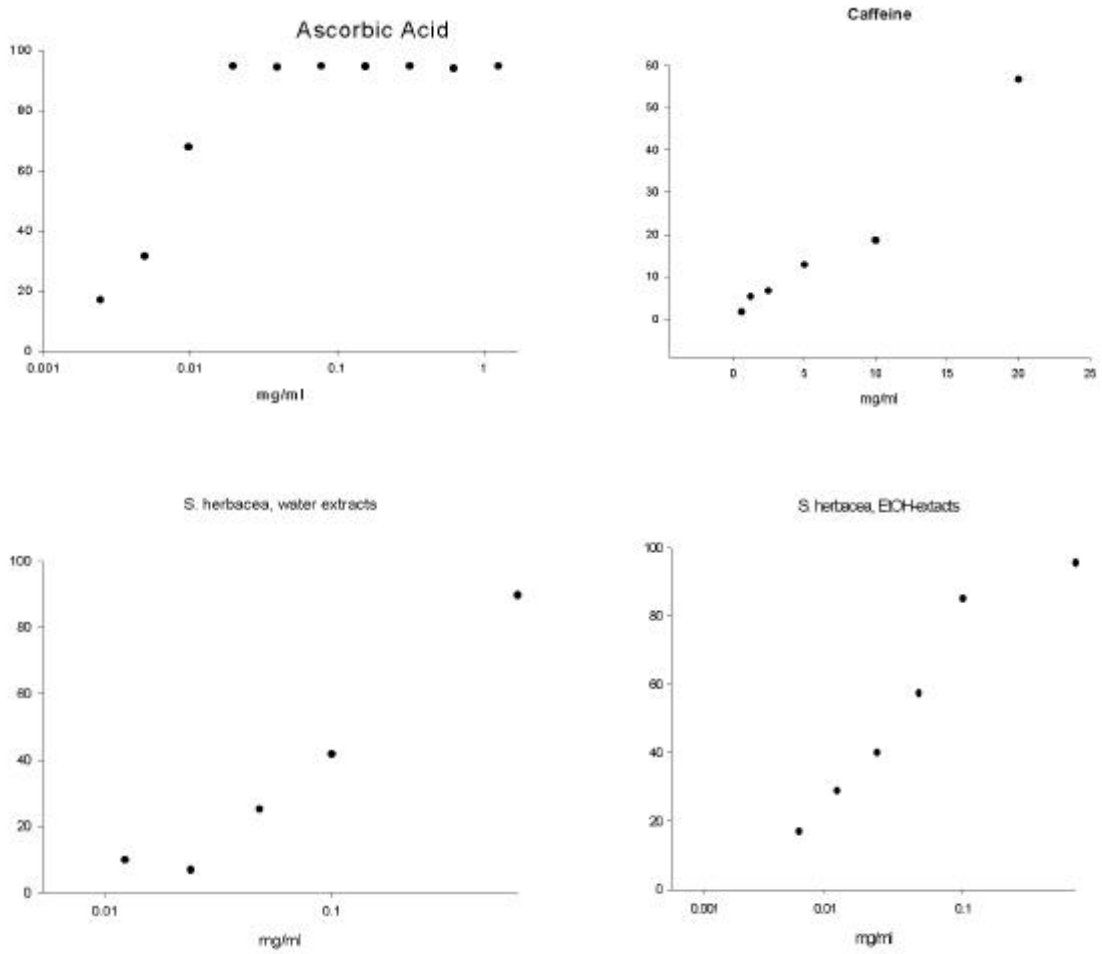

Figure 1. Scavenging effects of ascorbic acid, caffeine, water-extracts, and ethanol-extracts of S. herbacea on DPPH radical. An ethanol solution of each sample (or ethanol itself as control) was added to 0.1 mM DPPH in methanol solution.

Table 2. Measurement of ALP, LDH, SGOT (equal to AST, asparate aminotransferase) and SGPT (equal to ALT, alanine aminotrasferase) in blood of experimental rat

	CT	R	A	AR	B	BR	C	CR
ALP	100	108.2	108.4	104.0	127.2	108.8	122.8	114.0
LDH	100	87.5	49.9	57.3	103.5	95.3	72.3	90.1
SGOT	100	88.8	103.5	157.0	128.9	93.6	72.9	154.1
SGPT	100	100	110.7	121.5	109.2	81.5	95.3	107.6

Table 3. The counting of red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) and the level of hemoglobin in EDTA-blood by ADVIA120 (Bayer).

	CT	R	A	AR	B	BR	C	CR
WBC	100	35.03	118.2	19.7	109.4	24.8	102.1	89.78
RBC	100	113.2	94.9	122.1	126.6	115.1	113.7	123.6
HCT	100	121.8	96.8	128.1	131.2	121.8	121.8	128.1
Hb	100	108.6	106.7	120.1	125.9	115.3	111.5	119.2

감사의 말씀

본 연구는 과학기술부에서 시행하는 원자력중장기 연구개발 사업의 일환으로 수행되었습니다.

4. 참고문헌

[1] C.S. Kim, Physiological mechnism of halophytes. '91 Rural Development

Administration Symposium 17, 100 (1991).

[2] Y.C. Jo, K.S. Lee, S.M. Chon, D.S. Byun, Characteristics of growth and germination of Salicornia herbacea L. for the soil salinity and manure condition, Korean J Medicinal Crop Sci 10(2), 100 (2002).

[3] Y.S. Kim, M.R. Huh, J.C. Park, Effects of culture media and seawater on growth and mineral concentrations in glasswort, Kor J Hort Sci & Technol 19(3), 342 (2001).

[4] S.Y. Cho, Y.B. Han, K.H. Shin, Screening fro antioxidant acitivity of edigle plants, J Korean Soc Food Sci Nutr 30(1), 133 (2001).

[5] Z. Gao, K. Hung, X. Yang, H. Xu, Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of Scutellaria baicalensis Georgi. Biochimica et Biophusica Acta 1472, 843 (1999).

[6] A. Boland, J. Gerardy, D. Mossay, V. Seutin, Pre- and post-treatment with pirlindole and dehydropirlindole protects cultured brain cells against nitric oxide-induced death, European J Pharma 466, 21 (2003).

[7] J.K. Kim, C.J. Lee, K.W. Song, Y.D. Yoon, Effects of follicle stimulating hormone on γ-ray irradiated immature mouse ovarian follicles. J Korean Asso Radiat Prot 23, 89 (1998).