J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 3, pp. 260~265 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

랫드에서의 Fe-NTA 유발 산화스트레스에 대한 차전초 에탄올 추출물의 전립선보호 효과

홍승택 · 홍충의 · 남미현 · 마원원 · 홍윤진 · 손다희 · 전수현 · 이광원*
고려대학교 생명과학대학 식품공학부

Protective Effect of *Plantago asiatica* L. Leaf Ethanolic Extract Against Ferric Nitrilotriacetate-Induced Prostate Oxidative Damage in Rats

Seung-Taek Hong, Chung-Oui Hong, Mi-Hyun Nam, YuanYuan Ma, Yun-Jin Hong, Da-Hee Son, Su-Hyun Chun and Kwang-Won Lee*
Division of Food Bioscience & Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University
(Received May 17, 2011/Revised June 10, 2011/Accepted July 5, 2011)

ABSTRACT - *Plantago asiatica* L. (*P. asiatica*) has been used as one of the popular folk medicines in Asia for human health care practices. Various activities of *P. asiatica* have been reported, such as anti-oxidant, anti-glycation, anti-inflammatory and hepatoprotective activity. Therefore, the potential of *P. asiatica* to reduce oxidative stress has been studied in several ways for over 20 years, especially at liver and kidney. However no investigation has been reported revealing its protective effect on prostate. *Method* : Treatment of *P. asiatica* leaf ethanolic extract (PLE) (1 g/kg body weight (b.w.), 2 g/kg b.w., or 4 g/kg b.w.) were given separately to animals for pretreatment once per day for 7 days, and on the seventh day ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA; 0.24 mmol Fe/kg b.w.), which is known as an oxidative stress-inducer at prostate, was administrated by i.p to negative control group. At the end of the study period, dissection was carried out for detecting the prostate protective effect of PLE. *Result* : Fe-NTA-treated animals produced reactive oxygen species (ROS) resulting in depletion of antioxidant biomaker, such as glutathione (GSH), glutathione reductase (GR), and glutathione s-transferase (GST) and increase of lipid peroxidation in prostate. However, PLE pretreatment resulted in an increase in the GSH, GST and GR levels concentration dependent manner and in an significant decrease in the levels of lipid peroxidation. *Conclusion* : Our data suggest that PLE may be effective in protecting oxidative stress-induced damage of prostate, and PLE may be an chemopreventive agent against Fe-NTA-mediated prostate oxidative damage.

Key words: *Plantago asiatica*, prostate, ferric-nitrilotriacetate, oxidative stress, protective effect

빠르게 변하는 현대 사회에서 인간에게는 공해물질 및 오염물질, 잘못된 식습관 또는 정신적 스트레스 등이 산화스트레스를 유발한다. 그리고 이 과정에서 유발된다고 알려진 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)은 다양한 질병들의 기본적인 원인 중의 하나로 여겨지고 있으며, 면역저하[1,2], 알츠하이머[3], 암[4] 등의 치명적인 질병의 매개체가 된다는 많은 연구결과가 나오고 있다. ROS에 대한 연구들은 계속 보고 되고 있으며, 특히 ROS에 의한 산화스트레스가 인체에 미치는 영향중에서 간, 신장 등의 기관에 대한 연구는 최근까지 많이 이루어지고 있다[5,6]. 하지만, 산화 스트레스에 취약하다고 알려진[7] 인체 주요 기관 중 하나인 전립선에 대한 연구는 아직까지 많이 보고 되어있지 않다.

더불어, 예로부터 우리나라 민간요법으로 항암, 기침, 설사, 두통 등에 효과가 있다고 많이 알려져 활용되어진 차전초(*Plantago asiatica* L.)의 전립선 보호 효과에 대한 연구 결과는 아직까지 보고되지 않았다. 차전초는 차전초과 차전초속에 속하는 여러해살이풀로서 전 세계에 3속 300종이 분포하고 있으며 질경이라고도 불린다. 각 지의 들판이나 길가에서 자라는 차전초는 예로부터 거담, 항균, 진해 작용 등의 약리작용 때문에 민간요법의 약제로서 많이

*Correspondence to: Kwang-Won Lee, Division of Food Bioscience & Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, 1, 5-ga, Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea
E-mail: kwangwon@korea.ac.kr

사용되어 왔으며, 차전초 추출물은 면역조절[8], 항글라이케이션 효과[9], 항산화 활성[10], 항염증[11] 등 다양한 생리활성을 가지고 있음이 알려져 있다. 또한, 차전초 추출물의 안전성은 Park 등이 랫드에 차전초 추출물 단회와 14일, 90일 반복투여 독성시험을 한 결과, 일반 독성 및 유전 독성에서 안전성이 확보되었다[12,13].

이에 본 연구진은 랫드에 차전초잎 주정에탄올 추출물(*P. asiatica* leaf ethanolic extract; PLE)의 산화적 스트레스에 대한 전립선 보호 효과를 과학적으로 확인하기 위한 시험을 실시하였다. Matos 등은 ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)를 랫드에 복강투여하여 DNA 손상 지표인 8-oxodGuo의 수치를 측정함으로써 Fe-NTA가 전립선에 산화 스트레스를 일으키는 것을 확인하였으며[14], 본 실험에서도 Fe-NTA를 이용하여 전립선에 산화 스트레스를 유발하여 PLE를 투여한 후 전립선 보호효과를 확인하였다.

이렇듯 차전초의 안전성은 확보되어 있고, 오래전부터 한방 및 민간요법에서 꾸준히 이용되어 왔으나 아직 그 기능성에 대한 연구는 많이 미흡한 실정이기 때문에, 본 연구진은 차전초의 다양한 생리활성 가능성을 가진 차전초 추출물을 랫드에 투여하여 Fe-NTA로 전립선에 유발된 산화 스트레스에 대해 어떠한 영향을 미치고, 보호효과를 가질 수 있는지를 규명하여 기능성 소재 후보로서 차전초잎 주정에탄올 추출물(PLE)의 가능성을 연구하였다.

재료 및 방법

시험물질

(주) 약초장터를 통해 충청북도 제천산의 다 자란 차전초 잎을 구매하였다. 먼저, 차전초 잎을 1차 동결건조 한 후 분쇄하여 주정에탄올로 3시간 동안 3번 반복 환류 냉각 하여 추출 한 후, 원심분리기를 이용하여 7000 rpm, 15분, 4°C로 원심분리 후 상등액을 whatman No. 42로 여과하였다. 여액을 감압증류 한 다음 다시 동결건조를 하여 주정에탄올 추출물(PLE) 분말을 얻었다. 이렇게 얻은 차전초 잎 추출물은 차광 상태로 −70°C에서 냉동 보관하였으며, 각 투여군의 농도에 따라 멸균 정제수에 현탁하여 사용하였다.

Ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA) 용액의 준비

Fe-NTA 용액은 Khan and Sultana[15]의 방법을 이용하여, ferric nitrate (0.24 mmol/kg body weight(b.w.)) 용액을 NTA (0.96 mmol/kg b.w.) 용액과 혼합한 후 sodium bicarbonate로 pH를 7.4로 보정하여 제조하였다. Fe-NTA 용액은 신선하게 준비된 상태로 시험에 즉시 사용하였다.

시험 동물 및 사육환경

시험 동물은 7~8 주령의 Wistar rat을 (주) 샘타코에서 구입하여 사용하였다. 먼저 1주일간 검역 및 순화를 실시 한 후 건강하다고 판정된 것 중 체중이 260 ± 5 g인 것을 선별하여 시험에 사용하였다. 사육 조건은 온도 23 ± 3°C, 상대습도 50 ± 10%, 조명 시간 12시간(08:00 점등 ~ 20:00소등), 조도 150 ~ 300 Lux, 환기회수 10 ~ 20 회/hr로 설정된 환경에서 랫드 사육상자(225 W × 200 L × 180 H mm)당 1마리를 사육하였다. 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다.

실험그룹과 투여물질

실험 그룹은 총 5개의 그룹으로, 아무것도 처리하지 않은 대조군, Fe-NTA를 처리하여 산화스트레스를 유발한 음성 대조군, PLE 1, 2, 4 g/kg b.w. 의 농도로 경구 투여 후 Fe-NTA를 처리한 그룹이다. 각 그룹의 랫드는 무작위적으로 배정하였다. PLE투여는 임상적용경로와 같이 경구로 투여하였으며, PLE를 농도별로 1일 1회 7일간 같은 시각에 투여하였고, 마지막 날인 7일째 되는 날 Fe-NTA (0.24 mmol Fe/kg b.w.)를 복강 주사하여 급성 전립선 독성을 유발하였다. 대조군 그룹에는 Fe-NTA 대신 생리식염수를 복강 주사하였다.

전립선 조직 적출 및 보관

랫드에 복강 주사 후 18시간이 경과하였을 때 랫드를 CO_2로 마취시킨 후 희생시켜 전립선 조직을 적출하였다. 전립선 조직은 생화학적 분석을 위해 액체 질소로 급속 냉동 한 후 분석 전까지 −70°C에 보관하였다.

Reduced glutathion (GSH) 측정

전립선 조직을 homogenizer를 이용하여 1.17% KCl을 함유한 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에서 마쇄한 후, 상등액을 얻는다. 이 조직분쇄 상등액에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)를 더한 후 100 mM 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)를 잘 혼합하고 5분후에 412 nm에서 분광광도계를 이용하여 측정하였다. 이때 상등액 대신 GSH 표준품의 농도별 값을 구하여 검량곡선을 그린 후 샘플의 GSH 함량을 측정하였다.

Glutathione-S-transferase (GST) 측정

GST 시험액은 GSH 시험액에 사용한 동일한 상등액과 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5)에 1 M GSH, 1 M 1-chloro-2,4-dinitrobenzene를 혼합 한 후 5분 동안 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 340 nm에서 측정하였다.

Glutathione reductase (GR) 측정

GR 시험액은 GSH 측정에 사용한 상등액과 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 5 mM EDTA, 10 mM GSSG (oxidized GSH), 1 mM β-NADPH, 1% BSA를 혼합하여 5분 동안 반

응시킨 후 분광광도계를 이용하여 340 nm에서 측정하였다.

지질과산화물 (Thiobarbituric acid reactive substance, TBARS) 측정

GSH 측정과 같이 조직분쇄 상등액에 trichloroacetic acid buffer (0.25 N HCl, 15% trichloroacetic acid, 0.375% thiobarbituric acid, 0.01% butyl hydroxytoluene) 0.5 mL를 첨가한 후 잘 섞어준다. 그리고 95°C 수조에서 30분 동안 반응시킨 후에 상온에서 식힌 후 원심분리(1000 rpm, 10 min) 하여 상층액을 얻어내고, 분광광도계를 이용하여 535 nm에서 측정하였다. 이 때, TBARs의 표준곡선은 1,1,3,3-tetraethoxypropane의 산에 의한 가수분해로 얻어진 malondialdehyde (MDA) 당량의 표준곡선을 계산한 후 이에 따른 측정치를 MDA 농도(mmol/g protein)으로 표기 하였다.

통계처리

모든 실험 결과는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며 SigmaStat version 10 (Systat Software Inc., Point Richmond, CA, USA)을 사용하여 Holm-Sidak 방법을 이용하여 일원분산분석으로 유의차 검정을 실시하였고 p <0 .05 이상의 경우에만 그룹 간 유의차가 있는 것으로 인정하였다.

결과 및 고찰

산화 스트레스는 인체의 많은 병들과 세포손상에 관여되어 있다고 잘 알려져 있다[1,16-17]. 철 이온은 생체 내에서 산화 스트레스를 일으키는 것으로 보고 되어있고[18], Matos. 등이 쥐에게 Fe-NTA를 복강 주사하여 전립선 조직에 산화 스트레스에 의한 DNA damage를 유발하였다[14]. 전립선 조직은 특히 산화 스트레스에 취약한 조직으로 알려져 있으므로[7], 전립선에 유발된 산화 스트레스를 보호하는 효과를 활성산소를 제거하는데 중요한 역할을 하는 GSH, GST, 및 GR 과 세포 손상의 지표인 MDA를 통해 확인하였다.

PLE에 의한 전립선조직 GSH의 보호

GSH는 자유 라디칼 이나 과산화물에 의해 유발된 ROS에 의한 손상을 막아주는 생체 내 주요 항산화 물질이다[19]. 이는 글리신, 글루타민, 시스테인의 총 세 가지 아미노산이 결합되어 만들어진 트리펩타이드 구조로 체내에서 자연적으로 생성된다[20]. GSH는 온몸의 세포에서 만들어지며 특히 간에 많이 존재하는 효소로, 외부에서 들어온 독성 물질을 체외로 배출 시키는 작용을 할 뿐만 아니라, 면역작용과 세포손상을 막아주는 매우 중요한 항산화 물질이다[21].

Wister rat을 이용한 본 시험에서 정상 대조군(193.8423 ± 37.7801 mmol GSH/g tissue)에 비해 Fe-NTA만 처리한 음성대조군(101.8866 ± 24.3121 mmol GSH/g tissue)은 GSH가 47.44% 정도 감소하였다. 이는 랫드의 전립선 조직에서 Fe-NTA에 의해 유발된 산화스트레스로 인해 체내의 GSH가 산화되어 GSSG로 바뀌면서 많이 감소된 것으로 판단된다 (Table 1). 반면, 차전초 주정에탄올 추출물 처리군에서는 음성 대조군에 비해 GSH 함량이 농도 의존적으로 증가했으며 4 g/kg b.w.의 농도 투여군 에서는 유의적 차이($^{**}P$ < 0.01)를 보이며 GSH 생성을 회복시키는 것으로 나타났다. Table 1에서 보는 바와 같이 PLE 1, 2 또는 4 g/kg b.w. 투여한 그룹은 119.0077 ± 1.2277, 150.7950 ± 34.1097, 182.9910 ± 10.8874 mmol GSH/g tissue로 Fe-NTA 단독 처리군에 비해 GSH 함량이 약 1.2, 1.5, 1.8배 증가한 것으로 나타나 PLE가 Fe-NTA에 의해 유발된 산화 스트레스에 대한 전립선 보호 효과가 있음을 확인 할 수 있었다. 이는 PLE가 항산화물질로 작용하는 GSH 생성을 회복시켜 산화스트레스에 대한 방어 효과를 나타내는 것으로 추정할 수 있다. 또한 본 연구에서는 아무것도 처리하지 않은 정상대조군과 PLE 4 g/kg b.w. 투여군이 유의적 차이를 나타내지 않으며 비슷한 GSH 함량을 나타내 항산화 효과를 기본으로 한 차전초의 전립선 보호 효과가 매우 높음을 확인 할 수 있었다.

PLE에 의한 전립선조직 phase II 효소인 GST 활성 증가

GST는 진핵과 원핵생물 안에 존재하는 촉매 효소로서, 이는 생체 내 중요한 항산화 물질인 GSH가 thiol 그룹(–SH 기)을 이용하여 외부의 독성물질과 conjugation 결합을 하게끔 촉매 한다. 이는 체내의 해로운 물질들이 무해한 형태 또는 배출되기 쉬운 형태로 변환하는 중요한 역할을 담당하며[22], 지질 과산화물과 같은 내생의 독성 물질을 무독화 시키는 반응을 촉매 한다[23].

Khan and Sultana[15]는 Fe-NTA에 의한 산화스트레스 때문에 GST가 감소하는 것을 보였으며, 이에 isoflavone을 투여하여 GST가 다시 회복이 되는 결과를 보였다. 본 저자도 랫드의 전립선에서 GST가 정상대조군(96.1090 ± 6.2256 units/g tissue)에 비해 Fe-NTA를 처리한 그룹이 44.56% 감소(53.2861 ± 11.4480 units/g tissue)한 결과를 보여 전립선에 산화 스트레스가 가해졌다는 것을 추정할 수 있었다. 하지만 PLE를 1, 2, 4 g/kg b.w. 을 투여한 그룹에서는 각각 65.7473 ± 9.7903, 76.5387 ± 4.4407, 91.6616 ± 5.5282 units/g tissue로 유의적 차이($^{*}P$ < 0.05, $^{**}P$ < 0.01)를 보이며 GST 함량이 증가하는 양상을 확인하였고, 특히 PLE 4 g/kg b.w. 을 투여한 그룹은 정상 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 PLE가 우리 몸에 항산화 작용 및 외부 독성물질 제거에 관여하는 phase II 효소인 GST를 증진시켜 Fe-NTA에 의해서 유발된 산화 스트레스 및 세포 손상을 억제하여 준다고 판단된다. 이는 앞서 측정한 GSH의 결과와 같은 맥락으로 볼 수 있어, PLE가 생체의 항산화 물질의 증가와 이의 활성화와 직접적으로 연결되어 산화 스트레스에 의한 보호 효과를 보인다고 판단된다(Table 1).

Table 1. Effects of pretreatment with *Plantago asiatica* leaf extract (PLE) on Fe-NTA-mediated depletion of prostate glutathione content and decrease in the activities of glutathione metabolizing enzymes, glutathione-S-transferase and glutathione reductase in rat

Treatment groups	Reduced glutathione (mmol GSH/g tissue)	Glutathione-S-transferase (Units/g tissue)	Glutathione reductase (Units/g tissue)
Saline (control)	193.84 ± 37.78^{b**}	96.11 ± 6.23^{b***}	31.32 ± 3.85^{b***}
Fe-NTA (0.24 mmol Fe/kg body weight)	101.87 ± 24.31	53.29 ± 11.45	15.74 ± 2.92
PLE (1 g/kg body weight) + Fe-NTA (0.24 mmol Fe/kg body weight)	119.01 ± 1.23	65.74 ± 9.79	19.24 ± 0.53
PLE (2 g/kg body weight) + Fe-NTA (0.24 mmol Fe/kg body weight)	150.80 ± 34.11	76.54 ± 4.44^{b**}	19.17 ± 3.31
PLE (4 g/kg body weight) + Fe-NTA (0.24 mmol Fe/kg body weight)	182.99 ± 10.89^{b**}	91.66 ± 5.53^{b***}	26.88 ± 4.40^{b**}

Value are expressed as mean ± SD (n = 3), *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 compared with rat treated with Fe-NTA alone.

PLE에 의한 전립선조직의 GSH 환원효소, GR의 활성 증가

GR은 생체 내 GSH의 항산화 작용에 의해 생성된 산화된 GSSG를 GSH로 환원시키는 작용을 촉매하는 중요한 효소로 잘 알려져 있다[24]. 특히, 전립선에는 고환에서 만들어진 정자가 모여 있는데, 정자는 산화 스트레스에 굉장히 약하다고 알려져 있다[25]. 이에 따라, GR의 활성 증가는 GSH 생성과 함께 전립선 내 정자의 환원 성분으로 작용함으로써 전립선에서 정자를 보호하는 역할을 한다[26]. 이처럼 GR은 직접적으로 환원 성분으로 작용하여 조직 내 peroxide를 제거 할 뿐 아니라, 전립선 조직에서 정자의 보호에 큰 기여를 하는 GSH의 생산에 관여를 하는 중요한 효소이다[27].

본 실험에서 아무것도 처리하지 않은 정상 대조군(31.3249 ± 3.8508 Unit/g tissue)에 비해 Fe-NTA에 의해 전립선에 산화 스트레스가 유발된 그룹의 GR 함량이 15.7394 ± 2.9244 Units/g tissue로 정상 그룹 대비 49.75%가 감소하여 Fe-NTA에 의한 전립선의 손상을 보였다. 그러나 PLE 1, 2 또는 4 g/kg b.w. 을 각각 투여한 그룹에서 Table 1과 같이 19.2360 ± 80.5326, 19.1665 ± 3.3053, 26.8816 ± 4.3994 Units/g tissue으로 GR의 함량이 농도 의존적으로 다시 증가하는 것을 확인 하였다. 심지어 GR 함량이 4 g/kg b.w. 의 PLE 투여군에서는 아무것도 처리하지 않은 정상 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않으며 비슷한 수준까지 올라오는 것으로 보아 PLE가 전립선의 산화적 손상을 정상수준까지 회복 시키는 것으로 보인다.

Fe-NTA 투여는 쥐의 전립선 조직에 산화 스트레스에 의한 손상을 야기했다. PLE는 이러한 산화적 손상에 대응하여 GST와 GR을 정상 대조군 수준까지 회복시킴으로써 전립선 기관을 보호하고, 회복된 GR의 수준은 산화스트레스로부터 전립선 내의 정자를 보호하는데 큰 역할을 담당하는 GSH의 환원을 유도했다. 요약하면, 전립선에 유발된 산화 스트레스에 대해 대표적인 항산화 바이오마커들인 GSH, GR, GST는 차전초 추출물 4 g/kg b.w. 의 농도에서 정상수준의 회복을 보임으로써 전립선의 손상 억제 효과를 나타내었다.

PLE에 의한 전립선조직 TBARS 형성 감소

지질 과산화물은 조직 내 발생한 ROS가 인지질 세포막의 수소 원자를 제거하여 조직이 손상되며 생기는 것으로, 조직 손상의 척도이다. 이 과정은 인지질 막에 다량 함유된 불포화 지방산 수소 원자와 연쇄 반응이 일어나서 MDA 등의 산화 생성물을 형성시키며, 이는 세포막의 투과성을 증가시켜 체액의 손실 및 단백질 변화를 유발하여 동맥경화, 고혈압, 심장병 등의 각종 질병을 일으킬 수 있다[28].

Fig. 1에서 Fe-NTA 처리군의 매우 높은 MDA 농도는 Fe-NTA 처리가 랫드의 전립선 조직에 상당한 지질 과산화를 야기시켰다고 볼 수 있다. 이 그룹은 아무것도 처리하지 않은 정상 대조군의 MDA 양인 75.6588 ± 14.9021 mmol/g tissue 보다 무려 2.55배 많은 MDA의 양 192.7422 ± 33.1966 mmol/g tissue를 나타내었다. 하지만, Fig. 1에서 보듯이 Fe-NTA와 함께 PLE를 투여한 그룹에서 MDA 수준은 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보이며 1, 2, 4 g/kg b.w. 처리군은 각각 137.8371 ± 23.2856, 125.1569 ± 16.6877, 85.9829 ± 5.1220 mmol/g tissue의 MDA 생성량을 보였다. 이는 음성

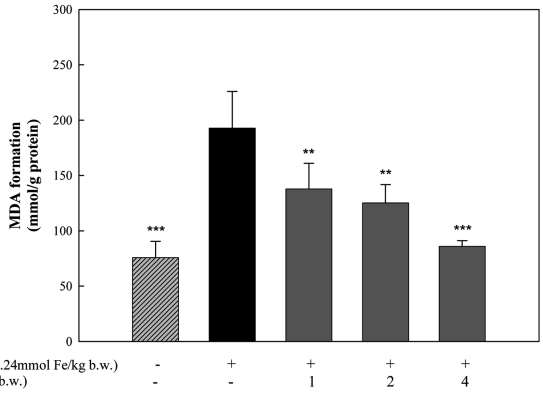

Fig. 1. Effects of pretreatment with *Plantago asiatica* leaf extract (PLE) on Fe-NTA-mediated increase of prostate malondialdehyde (MDA) in Wistar rat. Values are expressed as mean ± SD (n = 3), Significant difference is **P < 0.01, ***P < 0.001 compared with rat treated with Fe-NTA alone.

대조군에 비해 약 28.49, 35.07, 55.39%의 감소효과를 보이며 Fe-NTA 산화스트레스에 의해 유발된 전립선 세포 인지질 막의 손상을 보호하는 효과를 확인 할 수 있었다. 특히 지질과산화물에 대해서는 1 g/kg b.w. 농도 투여군 부터 유의적 차이($^{**}P < 0.01$)를 보이며 MDA 생성을 감소시켜 PLE의 조직 내 지질과산화물 생성 억제 효과를 확인 하였으며, 이는 앞선 항산화 바이오 마커들과 더불어 PLE의 산화 스트레스 대한 전립선 보호 효과를 확인 할 수 있었다. 또한, 본 연구진은 차전초 추출물의 신장 보호 연구를 수행하였으며, 이 연구에서 차전초 추출물은 산화적 손상을 입은 신장 조직의 GSH, GR, GST level 을 증가 시켰고, 또한 신장 조직의 지질과산화물 생성을 억제하였다[29]. 이는 차전초 추출물이 전립선 조직뿐만 아니라 신장에서도 높은 항산화 효과를 보이며 조직보호 활성을 나타내는 것으로서, 차전초에 함유된 높은 항산화 활성을 지닌 plantamajoside에 의한 것으로 판단된다[9]. 이후의 연구에서는 차전초 추출물에서 전립선 보호 효과를 가지는 활성 물질을 증명하기 위하여 단일 물질인 platamajoside를 통한 조직에서의 보호 활성을 연구하는 것이 필요할 것이다.

감사의 말

본 연구는 농림수산식품기획평가원(과제번호:109140-03-SB010)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

요 약

Fe-NTA는 전립선에 산화 스트레스를 일으킨다고 보고되어 있으며, 본 연구자는 랫드에 항산화 효과가 있다고 알려진 차전초잎 추출물(*P. asiatica* leaf extract, PLE)을 1, 2 또는 4 g/kg body weight (b.w.) 1주일간 경구 투여하고 ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)의 복강 주사로 전립선에 손상을 일으킨 후 차전초가 전립선에서 산화 스트레스를 얼마나 억제하여 주는지를 항산화 바이오 마커들인 reduced glutathione (GSH), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR) 및 지질과산화물의 척도인 malondialdehyde (MDA)를 통해서 측정하였다.

전립선 기능 이상 시 증가되는 GSH 및 GR은 아무것도 처리하지 않은 대조군(193.84 ± 37.78 mmol/g tissue, 31.32 ± 3.85)에 비해 Fe-NTA로 산화스트레스를 유발한 그룹에서 101.89 ± 24.31, 15.74 ± 2.92 mmol/g tissue 48% 의 감소를 나타낸다. 반면 PLE 1 g/kg b.w. 을 투여한 그룹에서는 GSH 및 GR 수치가 119.01 ± 1.23 mmol/g tissue 와 19.24 ± 0.53 mmol/g tissue, 2 g/kg b.w. 을 투여한 그룹에서는 150.80 ± 34.11 mmol/g tissue와 19.17 ± 3.31 mmol/g tissue, 마지막으로 4 g/kg b.w. 투여 그룹에서는 182.99 ± 10.89와 26.88 ± 4.40 mmol/g tissue 로 Fe-NTA만 처리한 그룹에 비해 농도 의존적으로 GSH와 GR 함량이 회복되는 경향을 보이며, 이는 GSH 함량이 농도에 따라 약 1.2, 1.5, 1.8배 증가, GR 함량이 약 1.2, 1.22, 1.7배 증가한 것이다. 이렇듯 정자 보호와 전립선 조직 세포 보호에 관련이 있는 GSH와 GR값이 유의적 차이로 회복되는 결과에 따라 PLE의 전립선 보호 효과를 확인하였다. 또한, 항산화의 또 다른 바이오 마커인 GST 값은 아무것도 처리하지 않은 그룹 96.11 ± 6.23 mmol/g tissue에 비해 Fe-NTA 만 처리한 그룹 53.29 ± 11.45 mmol/g tissue이 약 45% 정도 감소하였지만, PLE 1, 2 또는 4 g/kg b.w.을 투여한 그룹에서 각각 65.74 ± 9.79 mmol/g tissue, 76.54 ± 4.44 mmol/g tissue, 91.66 ± 5.53 mmol/g tissue의 값을 나타내며 Fe-NTA에 의해 생성된 산화 스트레스의 자유라디칼을 효과적으로 억제함을 확인하였다.

또한, 전립선에서 철 이온에 의해 유도된 산화스트레스에 의해 발생된 지질과산화물을 측정하였을 때 Fe-NTA 에 의해 산화 스트레스만 유발한 그룹은 192.74 ± 33.20 mmol/g tissue로 대조군 그룹의 75.66 ± 14.90 mmol/g tissue 보다 2.55배 높은 MDA를 생성한 것으로 지질과산화가 많이 일어난 것을 확인하였으나, PLE 1, 2 또는 4 g/kg을 투여한 그룹의 MDA의 생성량은 137.84 ± 23.29, 125.16 ± 16.69, 85.98 ± 5.12 mmol/g tissue 로 약 29%, 35%, 55% 감소한 것을 확인하였다. 랫드의 전립선에서, 독성을 유발하는 Fe-NTA를 투여 후 PLE를 투여하였을 때 전립선 인지질 막의 손상지표인 MDA의 농도 의존적 감소와 항산화 및 정자 보호의 전립선 기능의 지표인 GSH, GR의 값이 증가하였다.

위의 결과들을 종합하였을 때, 우리는 Fe-NTA가 전립선에서 산화스트레스를 유발하고, 전립선 인지질 막의 손상을 줄 수 있으며, PLE는 이러한 전립선 손상을 항산화 효과를 기본으로 하여 전립선 보호 효과가 있음을 확인하였다.

참고문헌

1. Wiseman, H. and B. Halliwell : “Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer.” *Biochem J,* 313 (Pt 1): 17-29 (1996).
2. Chapple, I. L. C. : “Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases.” *J Clin Periodontol,* **24**(5), 287-296 (1997).
3. Jomova, K., Vondrakova, D., Lawson, M. and Valko M.: Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. *Mol Cell Biochem,* **345**, 91-104 (2010).
4. Feig, D. I., T. M. Reid, et al., : “Reactive Oxygen Species in Tumorigenesis.” *Cancer Research. Am J Chin Med,* 54(7 Supplement): 1890s-1894s (1994).
5. Giuseppe Poli : Pathogenesis of liver fibrosis: role of oxidative stress. *Mol Aspects Med,* **21**, 49-98 (2000).
6. JM Forbes, MT Coughlan et al., : Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes. *Perspectives In Diabe-*

tes, **57**, 1446-1454 (2008).
7. Chen L, Stacewicz-Sapuntzakis M, Duncan C *et al*., : Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato sauce-based entrees as a whole-food intervention. *J Natl Cancer I,* **93**, 1872-1879 (2001).
8. Lien-Chai Chiang. : In Vitro Cytotoxic, Antiviral and Immunomodulatory Effects of Plantago major and Plantago asiatica. *Am J Chin Med*, **31**, 225-234 (2003).
9. Soo-Youn Choi. : Glycation inhibitory activity and the identification of an active compound in Plantago asiatica extract. *Phytother Res,* **3**, 323-329 (2008).
10. Yin, J.N., Nie, S.P., Zhou, C. and Xie MY. : Chemical characteristics and antioxidant activities of polysaccharide purified from the seed of plantago asiatica. L. *J Sci Food Agr,* **90**, 210-217 (2010).
11. Turel, I., Ozebek, H., Erten, R., Oner, A.C., Cengiz, N. and Yilmaz, O. : Hepatoprotective and anti-inflammatory of Plantago major L. *Indian J Pharma sci,* **41**, 120-124 (2009).
12. Park, B.G., Lee, H.S., et al., : Single & 14-day repeated oral toxicity study and genotoxicological safety estimate of plantamajoside isolated from Plantago asiatica. *J Toxicol Pub Health,* **23**(1), 79-86 (2007).
13. Park, B.G., Lee, H.S., et al., : A 90 day repeated oral toxicity study on plantamajoside concentrate from Plantago asiatica. *Phytother Res,* **21**, 1118-1123 (2007).
14. H.R. Matos, S.A. Marques1, et al., : Lycopene and ß-carotene protect in vivo iron-induced oxidative stress damage in rat prostate. *Braz J Med Biol Res,* **39**, 203-210 (2006).
15. Khan, N. and Sultana, S.: Induced of renal oxidative stress and cell proliferation response by ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA): diminution by soy isoflavones. *Chem-Biol Interact,* **149**, 23-35 (2004).
16. Okezie I. Aruoma. : Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *J Am Oil Chem Soc*, 75: Number **2**, 199-212 (1998).
17. Hidehiro Matsuoka. : Endothelial dysfunction associated with oxidative stress in human. *Diabetes Res Clin Pr,* **54**, S65-S72 (2001).
18. De Freitas JM, Meneghini R., : Iron and its sensitive balance in the cell. *Mutat res-fund mol m,* **475**, 153-159 (2001).
19. Townsend, D. M., K. D. Tew, et al. : "The importance of glutathione in human disease." *Biomed Pharmacother,* **57**(3-4), 145-155 (2003).
20. Mannervik, B. and U. H. Danielson : "Glutathione transferases--structure and catalytic activity." *CRC Crit Rev Biochem,* **23**(3), 283-337 (1998).
21. JR Mitchell, et al., : Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J Pharmacol Exp Ther,* **187**, 211-217 (1973).
22. Strange, R. C., P. W. Jones, et al., : "Glutathione S-transferase: genetics and role in toxicology." *Toxicol Lett,* **112-113**, 357-363 (2000).
23. Leaver MJ, George SG : "A piscine glutathione S-transferase which efficiently conjugates the end-products of lipid peroxidation." *Mar Environ Res,* **46**(1-5), 71-74 (1998).
24. Meister A. : Glutathione metabolism and its selective modification. *J Biol Chem,* **263**(33), 17205-8 (1998).
25. Kim, J.G. & Parthasarathy, S. : Oxidation and the spermatozoa. *Semin Reprod Endocrinol,* **16**, 235-239 (1998).
26. Tomoko Kaneko, et al., : The expression of glutathione reductase in the male reproductive system of rats supports the enzymatic basis of glutathione function in spermatogenesis. *Eur J Biochem,* **269**, 1570-1578 (2002).
27. Mannervik B : "The enzymes of glutathione metabolism: an overview." *Biochem Soc T,* **15**(4), 717-8 (1987).
28. Singal PK, Beamish RE, Dhalla NS : Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. *Adv Exp Med Biol,* **161**, 391-401 (1983).
29. 홍충의, 홍승택, 구윤창, 양성용, 이지영, 이얀회이, 하영민, 이광원 :차전초 추출물을 투여한 랫드에서의 Fe-NTA 유발 산화스트레스에 대한 신장보호 효과, 한국식품위생안전성학회지, **26**(2), 1-7 (2011).