

## 에탄올에 의해 유발된 간독성에 대한 모과 추출물의 보호효과

이유미 · 이재준 · 신형덕 · 이명렬<sup>†</sup>

조선대학교 식품영양학과

## Protective Effects of *Chaenomeles sinensis* Koehne Extract on Ethanol-induced Liver Damage in Rat

Yu Mi Lee, Jae Joon Lee, Hyoung Duck Shin and Myung Yul Lee<sup>†</sup>

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju 500-759, Korea

### Abstract

This study was performed to investigate the effect of ethanol extract of *Chaenomeles sinensis* Koehne (CS) on alcohol-induced liver damage in rats. Male Sprague-Dawley rats weighing  $135 \pm 10$  g were divided into 6 groups for 4 weeks; normal group (ND), alcohol (35%, 10 mL/kg/day) treated group (ET), CS ethanol extract 200 mg/kg/day treated group (ND-CSL), CS ethanol extract 400 mg/kg/day treated group (ND-CSH), CS ethanol extract 200 mg/kg/day and alcohol treated group (ET-CSL), and CS ethanol extract 400 mg/kg/day and alcohol treated group (ET-CSH). The body weight gain and food efficiency ratio were no differences between ND and ET. There were increases in the activities of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and alkaline phosphatase (ALP) in ET. On the other hand, the administration of CS decreased ALT, AST and ALP activities in serum. It was also observed that the hepatic activities of superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px) and xanthine oxidase (XO) increased by alcohol treatment were also markedly decreased in the CS administered groups as compared with ET. The activities of hepatic SOD, catalase, GSH-Px and XO were not significantly different among the normal diet groups. Contents of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were increased by the administration of alcohol, on the other hand, the administration of CS reduced TBARS value in the liver. In addition, the content of glutathione (GSH) in the liver was decreased by alcohol administration, however, GSH increased after administering CS. In conclusion, the administration of alcohol develops the hyperoxidation of liver lipids through the increase in enzymes activity related to the lipid peroxidation, however, it was decreased after administering CS. Thus, CS may have a possible protective effect on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver.

**Key words:** *Chaenomeles sinensis* Koehne, hepatoprotective effect, ethanol-induced liver damage

### 서 론

우리나라는 지속적인 경제성장과 소득증대에 따라 식생활이 다양하게 변화함으로써 노화, 뇌혈관계 질환, 심장병, 고혈압 및 당뇨병 등 각종 만성 퇴행성 질환이 증가하고 있으며 이로 인한 사망률이 점차 증가하고 있다(1,2). 만성 퇴행성 질환의 주요 원인 중 하나는 세포의 산화적 손상이며(3), 이 과정에서 생성되는 유해활성 물질들은 지질, 단백질, 그리고 핵산 등에 손상을 유발한다. 체내에서는 이러한 유해 radical을 제거하기 위한 항산화 기전이 존재하지만, 오늘날 각종 화학 약품, 공해 물질 등이 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 superoxide radical( $O_2 \cdot^-$ ), hydroxyl radical (HO $\cdot$ ), hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ), singlet oxygen( $^1O_2$ ) 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소(active oxygen)가 다량 생성되면 생체에 치명적인 산소독성을 일으키게 된다(4).

특히 경제수준의 향상으로 알코올 소비량이 날로 증가하는 추세이다. 알코올의 분해는 일차적으로 간에서 일어나며 주로 alcohol dehydrogenase와  $NAD^+$ 에 의해 acetaldehyde와 NADH를 생성한다(5). 간에서 생성된 acetaldehyde와 기타 이물질에 의하여 유해 radical 생성이 증가되고 이로 인하여 생성된 지질과산화물이 간손상을 야기한다. 따라서 이러한 활성산소를 조절하기 위하여 그동안 효과가 우수한 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole(BHA)과 butylated hydroxytoluene(BHT)이 다량 사용되어 왔으나 장기 사용 시 변이원성과 독성이 야기되어 소비자들의 거부반응으로 그 사용이 감소되고 있는 추세임으로(6), 안전하면서도 효과가 우수한 천연 항산화물질 개발에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

모과는 중국이 원산지이고 장미과에 속하는 모과나무(*Chaenomeles sinensis* Koehne)의 성숙과실로 꽃은 5월에

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail: mylee@mail.chosun.ac.kr  
Phone: 82-62-230-7722, Fax: 82-62-225-7726

피며 원형 또는 타원형의 열매는 9월에 황색으로 익고 향기가 좋다(7).

모과의 효능으로는 감기나 기관지염의 기침, 가래의 완화제로 많이 알려져 있고 특히 루머티즘, 폐렴 등에 효능이 우수한 것으로 알려져 있으며(8), 또한 향기가 좋아서 방향제로도 많이 이용되고 있다. 그러나 모과는 이러한 효능에도 불구하고 일반 과실에 비해 수분 함량이 적고 떫은맛이 강하며 석세포 및 목질이 발달하여 육질이 거칠기 때문에 식용하기에는 어려움이 많다.

모과에 관한 실험적 연구로, 모과의 정미성분인 polyphenols, 아미노산, 유기산 및 당의 함량 측정(9), 모과의 휘발성과 비휘발성 향기성분 분석(10), 모과·사과 혼합 청징 음료 제조에 관한 연구(11), 모과 주류의 생리기능성에 관한 연구(12) 등 모과의 가공에 관한 연구가 있을 뿐 모과의 동물 실험을 통한 생체 내 항산화 효능에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 *in vivo*에서 모과의 항산화 활성을 검토하기 위하여 흰쥐에 4주간 알코올과 모과 에탄올 추출물을 경구 투여 후 체중증가율, 식이효율, 혈청 중 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST)와 alkaline phosphatase(ALP) 활성, 간 손상 억제 효과들을 알아보기 위하여 유리기 해독제 효소인 catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px), superoxide dismutase(SOD) 활성과 유리기 생성계 효소인 xanthine oxidase(XO) 활성, 지질과산화물(thiobarbituric acid reactive substance, TBARS) 및 glutathione(GSH) 함량을 측정하여 항산화력을 비교 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료 및 시료추출

모과(*Chaenomeles sinensis* Koehne)는 2005년 10월 시장에서 판매되었던 황색 과피를 갖는 것을 실험재료로 사용하였다. 구입한 모과는 표면의 먼지와 이물질, 끈적이는 콜로이드성 물질 등을 중성세제로 제거한 후 흐르는 물로 깨끗이 씻고 물기를 잘 닦아 없앤 후 음건하였다. 건조된 모과는 blender(Braun, MR 350, CA, USA)로 조분쇄하여 시료 100 g을 80% 에탄올 500 mL에 넣어 65°C에서 환류냉각기를 부착하여 3시간씩 3회 추출한 후 Whatman filter paper(No. 2)로 여과하였다. 여액을 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator로 용매를 제거하고 감압·농축한 후 산화방지를 위해 -70°C에 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다.

### 실험동물의 식이 및 사육

실험동물은 Sprague-Dawley계 5주령 웅성 흰쥐 36마리를 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 동안 기본식으로 적응시킨 후 평균 체중 140±10 g인 것을 난피법(randomized

Table 1. Experimental design

Groups	Diet composition
ND	Basal diet <sup>1)</sup>
ET	Basal diet+EtOH <sup>2)</sup>
ND-CSL	Basal diet+CSL <sup>3)</sup>
ND-CSH	Basal diet+CSH <sup>4)</sup>
ET-CSL	Basal diet+EtOH+CSL
ET-CSH	Basal diet+EtOH+CSH

<sup>1)</sup>According to AIN-93 diet composition (27).

<sup>2)</sup>EtOH: 35% alcohol 10 mL/kg of b.w./day.

<sup>3)</sup>CSL: CS ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day.

<sup>4)</sup>CSH: CS ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day.

block design)에 따라 Table 1과 같이 각 군당 6마리씩 선정하여 실시하였다. 정상군(ND군), 35% 알코올 투여군(대조군, ET군), 정상식이와 모과 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 투여군(ND-CSL군), 정상식이와 모과 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 투여군(ND-CSH군), 35% 알코올과 모과 에탄올 추출물 저용량(200 mg/kg) 병합 투여군(ET-CSL군), 35% 알코올과 모과 에탄올 추출물 고용량(400 mg/kg) 병합 투여군(ET-CSH군)의 6군으로 나누어 4주간 1마리씩 분리 사육하였다. 기본 식이의 조성은 AIN-93G 정제사료 조성(13)에 의거하여 조제하였다. 알코올 투여를 통한 간독성 실험군은 Fujii 등(14)의 방법에 준하여 조제된 35% 알코올을 흰쥐 체중 kg당 10 mL씩 투여하였다. 모과 에탄올 추출물은 예비실험을 토대로 체중 kg당 200 mg과 400 mg이 함유되도록 생리식염수에 용해시킨 다음 매일 일정한 시간에 경구 투여하였으며, 정상군과 대조군은 생리식염수만을 모과 에탄올 추출물군과 동일한 방법으로 경구 투여하였다. 물과 식이는 제한 없이 공급하였으며, 사육실 온도는 18±2°C로 유지하였고, 조명은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다.

### 실험동물의 처치

실험동물은 처치 전 18시간 절식시킨 후 CO<sub>2</sub>로 가볍게 마취한 다음 개복하고 복부 대동맥에서 채혈하여 실온에서 1시간 이상 방치하였다. 그 후 4,500×g에서 20분간 원심분리한 다음 혈청을 분리하여 ALT, AST 및 ALP 활성 측정에 사용하였다. 간은 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 효소 활성 저하를 예방하기 위해 급속 동결하여 -70°C의 deep freezer에 보관하면서 효소 활성 및 항산화능 측정에 사용하였다.

### 효소원 조제

간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하고 빙냉하에서 ultra turax homogenizer(Janke & Kunkel, Germany)로 10,000×g에서 2분간 마쇄하였다. 마쇄액의 일부는 지질과산화물 함량 측정에 사용하였고, 나머지는 4°C, 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄

부분을 제거한 후 상정액을 15,000×g에서 20분간 원심분리하여 얻은 상정액은 XO, SOD, catalase, GSH-Px 활성 및 단백질 함량 측정에 사용하였다. 또한 간 조직 0.1 g에 5%(W/V) sulfosalicylic acid(SSA) 2 mL를 가하고 마쇄 후 10,000×g에서 10분간 원심분리하여 상정액을 GSH 함량 측정에 사용하였다.

#### 효소 활성 측정

간 조직 중 XO 활성은 Downey 등(15)의 방법, SOD 활성은 Crapo 등(16)의 방법, catalase 활성은 Aebi(17)의 방법, GSH-Px 활성은 Flohe 등(18)의 방법, 지질과산화물 함량은 Buege와 Aust의 방법(19), GSH 함량은 Tietze의 방법(20)으로 측정하였다. 혈청의 aminotransferase 활성은 Reitman과 Frankel(21)의 방법에 의하여 조제된 kit 시약(신양화학, 서울, 한국)을 사용하여 ALT 및 AST 활성을 측정하였고 단위는 혈청 mL당 karmen unit로 표시하였다. ALP 활성은 조제된 kit 시약(영동제약, 서울, 한국)을 사용하여 측정하였고 단위는 king armstrong unit로 표시하였다.

#### 단백질 함량

단백질 함량은 Lowry 등의 방법(22)에 의하여 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 측정하였다.

#### 통계처리

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0.1(statistical package for the social science)P/C package를 이용하여 실험군당 평균과 표준오차를 계산하였고, 일원배치분산분석(one-way ANOVA)를 실시하였으며, 사후검정은 Tukey's test에 의하여 실행하였다. 본 연구에 이용된 통계적 유의성 검증은  $p < 0.05$  수준에서 이루어졌다.

## 결과 및 고찰

#### 식이효율 및 체중당 간무게의 비율

모과 에탄올 추출물과 알코올을 4주간 경구 투여 후 측정된 흰쥐의 체중증가율, 체중 당 간무게의 비율, 식이효율은 Table 2, 3과 같다.

Table 2에서와 같이 실험기간 4주간의 1일 증체량은 ET군(알코올만을 투여한 대조군)이  $5.84 \pm 0.41$  g으로 ND군(기본식이만을 급여한 정상군)  $6.34 \pm 0.16$  g에 비하여 감소하였으나 유의차가 없었다. 알코올과 모과 에탄올 추출물을 병합 투여한 ET-CSL군과 ET-CSH군은 알코올만을 투여한 ET군과 유의차는 없었으나 다소 저하되었다. 식이효율은 ET군이  $0.17 \pm 0.03$ 으로 ND군  $0.20 \pm 0.05$ 에 비하여 유의하게 저하되었으나, ND-CSL군과 ND-CSH군 혹은 ET-CSL군과 ET-CSH군들은 ND군과 비슷한 식이효율을 나타내었다(Table 2). 체중 당 간무게의 비율은 ET군에 비하여 ND군이 감소되었으나 유의차는 없었고, ET-CSL군은 ET군에 비하여 증가하였으며, ET-CSH군은 ET군에 비해 오히려 감소

**Table 2. Body weight gain, food intake, food efficiency (FER) of rats fed the experimental diets**

Groups <sup>1)</sup>	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency <sup>4)</sup>
ND	$6.34 \pm 0.16^{2)NS3)}$	$19.39 \pm 2.36^{NS}$	$0.20 \pm 0.05^a$
ET	$5.84 \pm 0.41$	$17.80 \pm 1.92$	$0.17 \pm 0.03^b$
ND-CSL	$6.28 \pm 0.31$	$19.64 \pm 2.41$	$0.21 \pm 0.04^a$
ND-CSH	$6.39 \pm 0.32$	$19.04 \pm 2.56$	$0.20 \pm 0.03^a$
ET-CSL	$5.81 \pm 0.31$	$17.67 \pm 1.85$	$0.20 \pm 0.01^a$
ET-CSH	$5.58 \pm 0.34$	$17.65 \pm 1.98$	$0.21 \pm 0.04^a$

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean  $\pm$  SE of 6 rats per each group.

<sup>3)</sup>NS: not significantly different among groups.

<sup>4)</sup>Food efficiency: FER (body weight gain/food intake).

**Table 3. Liver weight of rats fed the experimental diet with CS extract for 4 weeks**

Groups <sup>1)</sup>	Liver weight (g)	Liver/BW (%)
ND	$9.29 \pm 0.26^{2)NS3)}$	$2.81 \pm 0.09^{NS}$
ET	$8.67 \pm 0.37$	$2.75 \pm 0.10$
ND-CSL	$9.05 \pm 0.54$	$2.76 \pm 0.21$
ND-CSH	$9.31 \pm 0.39$	$2.74 \pm 0.10$
ET-CSL	$8.83 \pm 0.39$	$2.79 \pm 0.10$
ET-CSH	$8.84 \pm 0.33$	$2.74 \pm 0.49$

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean  $\pm$  SE of 6 rats per each group.

<sup>3)</sup>NS: not significantly different among groups.

하였으나 유의차는 없었다(Table 3). 쥐에게 7% 알코올을 음용수에 첨가시켜 섭취시킨 결과 체중이 대조군에 비해 유의하게 감소하였다고 한 Rothwell과 Stock(23)의 연구 결과와 다량의 알코올을 만성적으로 섭취한 환자를 대상으로 한 실험에서 알코올 섭취 시 식이섭취량의 감소와 여러 영양소의 흡수장애로 체중감소를 초래했다는 Shaw와 Liber(24)의 연구 결과와 다른 경향이었으나, 본 연구에서도 알코올 투여군이 다른 실험군에 비하여 유의차는 없었으나 체중 감소 효과를 보았다.

#### 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성

흰쥐에게 알코올과 모과 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여 후 간 손상의 지표로 사용되어지는(25) 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성 측정 결과는 Table 4와 같다.

혈청 중 ALT 활성은 ND군들에 비교 시 차이가 없었으나, ET군은 ND군들(ND-CSL, ND-CSH)에 비하여 증가하였다. ET-CSL군과 ET-CSH군은 ET군에 비하여 혈청 중 ALT 활성이 유의하게 감소하였으며, 모과 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 유의하게 낮아지는 경향을 볼 수 있었으나 투여 용량에 따른 차이는 볼 수 없었다. 혈청 중 AST 활성도 ET군이 ND군과 ND-CSL군, ND-CSH군에 비하여 유의하게 증가되었고, ET-CSL군과 ET-CSH군은 ET군에 비해 유의하게 감소되었다. 혈청 중 ALP 활성은 ET군이 ND군에 비해 유의적으로 증가되었으며, ET-CSL군과 ET-CSH군은 ET군과 비교시 모과 에탄올 추출물 용

**Table 4. Activities of ALT, AST and ALP in the serum of rats administered alcohol and/or CS ethanol extract for 4 weeks**

Groups <sup>1)</sup>	Activity (Karmen unit/mL serum)		
	ALT	AST	ALP
ND	50.12 ± 5.21 <sup>2)bc3)</sup>	154.90 ± 6.24 <sup>b</sup>	43.70 ± 3.56 <sup>b</sup>
ET	63.25 ± 2.77 <sup>a</sup>	195.41 ± 6.00 <sup>a</sup>	54.00 ± 3.46 <sup>a</sup>
ND-CSL	50.90 ± 2.43 <sup>b</sup>	155.80 ± 5.05 <sup>b</sup>	41.10 ± 3.32 <sup>b</sup>
ND-CSH	48.50 ± 1.80 <sup>b</sup>	164.20 ± 4.20 <sup>b</sup>	42.01 ± 3.02 <sup>b</sup>
ET-CSL	53.02 ± 1.66 <sup>b</sup>	157.60 ± 3.08 <sup>b</sup>	50.30 ± 3.54 <sup>a</sup>
ET-CSH	50.14 ± 3.26 <sup>b</sup>	164.20 ± 4.06 <sup>b</sup>	48.50 ± 3.66 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>Values are mean ± SE of 6 rats per each group.

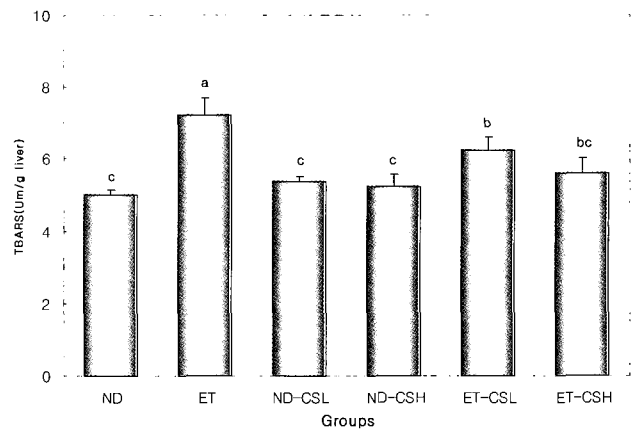
<sup>3)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different (p < 0.05) among groups by Tukey's test.

량에 따른 차이는 없었다. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성은 ND군에 비하여 알코올을 단독 투여한 ET군의 활성이 증가한 결과로 Ahn 등(26)의 연구 결과와 일치하였으며, 이 결과는 알코올이 간의 대사과정에 작용하여 대사 이상을 초래함으로써 간세포 손상이 증가되었음을 알 수 있으며, 알코올에 의한 간세포 손상이 모과 에탄올 추출물 투여로 점차 회복되어 가는 것으로 생각되어진다.

**간조직 중의 지질과산화물 함량**

알코올에 의해 초래된 간조직 손상 정도를 알아보기 위해 흰쥐에게 모과 에탄올 추출물을 200 mg/kg과 400 mg/kg과 같이 농도를 달리하여 알코올과 경구 투여 후 간조직의 지질과산화물 함량을 관찰한 결과는 Fig. 1과 같다.

ET군의 간조직 중 지질과산화물 함량은 7.23 ± 0.47 Um/g으로 ND군 5.01 ± 0.12 Um/g에 비하여 유의하게 증가되었다. ET-CSL군의 6.25 ± 0.36 Um/g과 ET-CSH군의 5.60 ± 0.42 Um/g은 간조직 중 지질과산화물 함량이 ET군에 비해 농도 의존적으로 감소하였다. ND군들 간에는 유의차가 없었다. 지질과산화 반응은 손상된 간 독성 발생의 중요한 기전으로(27), 급성 혹은 만성적인 알코올 투여가 간조직 중 지질과산화물량을 증가시킨다는 보고(28)와 같이 ET군이 ND군에 비하여 높은 수치를 나타냈다. 이는 알코올의 분해 산물인 acetaldehyde가 cytosolic xanthine oxidase와 작용하여 부산물로 생성된 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 양이 증가되고 이 물질이 세포막



**Fig. 1. Contents of TBARS in the liver of rats administered alcohol and/or CS ethanol extract.**

Groups are the same as in Table 1.

Values are mean ± SE of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at p < 0.05 by Tukey's test.

의 불포화지질과 결합하여 생성된 결과로 추정된다. 이와 같이 알코올 섭취 시 지질과산화물이 촉진된다는 Cho 등(29)의 보고와 일치하였다.

**간조직 중 항산화효소 활성**

흰쥐에 알코올 및 모과 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여 후 측정된 유리기 생성에 관여하는 효소인 XO 활성과 해독에 관여하는 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성을 측정 한 결과는 Table 5와 같다.

간조직 중 XO 활성은 ET군이 32.46 ± 2.26 unit/mg protein으로 ND군의 20.78 ± 1.66 unit/mg protein에 비하여 유의하게 증가되었다. 이는 알코올을 실험동물에 만성적으로 투여 시 XO 활성이 증가된다는 보고와 일치하였다(30). ET-CSL군의 24.66 ± 1.05 unit/mg protein과 ET-CSH군의 23.01 ± 2.01 unit/mg protein은 ET군에 비해 XO 활성이 농도 의존적으로 저하되는 경향을 보였으나, 모과 에탄올 추출물 투여 용량에 따른 유의차는 없었다. ET-CSL군과 ET-CSH군의 간조직 XO 활성은 ND군과 비슷한 경향이 있었다. 이는 알코올을 실험동물에 만성적으로 섭취시킬 때 XO 활성의 증가로 oxygen free radical이 생성되었으며, 모과

**Table 5. Activities of SOD, catalase, GSH-Px and XO in the liver of rats administered alcohol and/or CS ethanol extract**

Groups <sup>1)</sup>	SOD <sup>2)</sup>	Catalase <sup>3)</sup>	GSH-Px <sup>4)</sup>	XO <sup>5)</sup>
ND	62.52 ± 5.16 <sup>6)bc7)</sup>	242.23 ± 10.21 <sup>b</sup>	93.21 ± 5.63 <sup>bc</sup>	20.78 ± 1.66 <sup>b</sup>
ET	90.23 ± 4.32 <sup>a</sup>	375.01 ± 23.47 <sup>a</sup>	136.85 ± 6.37 <sup>a</sup>	32.46 ± 2.26 <sup>a</sup>
ND-CSL	67.31 ± 2.44 <sup>b</sup>	201.85 ± 15.88 <sup>c</sup>	86.70 ± 4.59 <sup>bc</sup>	22.3 ± 2.54 <sup>b</sup>
ND-CSH	54.30 ± 5.69 <sup>c</sup>	210.65 ± 14.17 <sup>c</sup>	75.20 ± 3.36 <sup>c</sup>	19.82 ± 1.69 <sup>b</sup>
ET-CSL	79.75 ± 5.74 <sup>a</sup>	310.00 ± 26.25 <sup>ab</sup>	102.03 ± 7.48 <sup>b</sup>	24.66 ± 1.05 <sup>b</sup>
ET-CSH	68.33 ± 3.39 <sup>b</sup>	260.45 ± 27.16 <sup>b</sup>	92.60 ± 5.58 <sup>bc</sup>	23.01 ± 2.01 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 1.

<sup>2)</sup>μM/min/mg protein. <sup>3)</sup>decreased H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> μM/min/mg protein. <sup>4)</sup>decreased NADPH μM/min/mg protein. <sup>5)</sup>u/g protein.

<sup>6)</sup>Values are mean ± SE of 6 rats per each group.

<sup>7)</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different (p < 0.05) among groups by Tukey's test.

에탄올 추출물 투여 후 free radical의 생성을 감소시킨 것으로 생각된다.

간조직 중 SOD 활성은 ET군이  $90.23 \pm 4.32$  unit/mg protein로 ND군  $62.52 \pm 5.16$  unit/mg protein에 비하여 유의하게 증가되었는데, 이는 알코올 투여로 증가된 superoxide anion radical( $O_2^-$ )를 소거하려는 생리적응현상으로 생각되어진다. ET군에 비해 ET-CSL군과 ET-CSH군의 SOD 활성이 농도 의존적으로 감소되었으며, 특히 고용량 병합 투여 시 유의하게 저하되었다.

간조직 중 catalase 활성은 ET군이  $375.01 \pm 23.47$  unit/mg protein로 ND군  $242.23 \pm 10.21$  unit/mg protein에 비해 유의하게 증가되었으며, 이는 SOD의 작용에 의해 생성된  $H_2O_2$ 를 분해하기 위해 catalase의 활성이 증가된 것으로 생각된다(31). ET-CSL군의  $310.00 \pm 26.25$  unit/mg protein과 ET-CSH군의  $260.45 \pm 27.16$  unit/mg protein는 ET군에 비해 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다.

간조직 중 GSH-Px 활성은 ET군이  $136.85 \pm 6.37$  unit/mg protein로 ND군인  $93.21 \pm 5.63$  unit/mg protein에 비하여 유의하게 증가되었다. 간조직 중 GSH-Px 활성은 ET군들 간에도 유의차를 보여 ET-CSL군의  $102.03 \pm 7.48$  unit/mg protein과 ET-CSH군의  $92.60 \pm 5.58$  unit/mg protein는 ET군에 비해 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다. ND군들 간에도 유의차를 보여 모과 에탄올 추출물의 투여 용량을 증가할수록 간조직의 GSH-Px 활성은 농도 의존적으로 유의하게 저하시켰다. 이러한 결과는 일반적으로 만성 알코올 투여시 GSH-Px 활성이 증가된다는 Ko 등(32)의 연구와 같다. 따라서 이 실험에서 간조직 내 생성된  $H_2O_2$ 가 모과 에탄올 추출물을 병합 투여로 감소되는 것으로 확인되었으며, 이는 모과 에탄올 추출물이 체내 산화적 손상을 예방하는 항산화 효과가 있을 것이라 사료된다.

간조직은 알코올 투여로 유도된 산화적 스트레스에 의한 free radical 발생이 증가함에 따라 세포의 환경을 보호하기 위하여 항산화 효소 즉 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성이 증가되어지며, 증가된 효소의 활성이 모과 에탄올 추출물 병합 투여로 유의적인 감소효과를 나타내어 항산화제로의 활용성과 간 보호 기능으로서의 가능성이 예상된다.

#### 간조직 중 GSH 함량

알코올과 모과 에탄올 추출물을 4주간 경구 투여 후 간조직의 GSH 함량 변화를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다.

ET군은 ND군에 비해 간조직 중 GSH 함량이 유의하게 감소하였다. ET군들 간에도 유의차가 보여 ET-CSL군과 ET-CSH군의 간조직 중 GSH 함량이 ET군에 비하여 농도 의존적으로 유의하게 증가되었으며, 특히 ET-CSH군은 ND군과 GSH 함량이 유사하였다. 알코올은 epinephrine, corticosteroide, glucagon 등의 호르몬 분비를 촉진하여 간으로부터 GSH의 유출을 증가시키므로 조직 내 GSH 감소가 일어나며, 이차적으로는 free radical에 의한 지질과산화 반

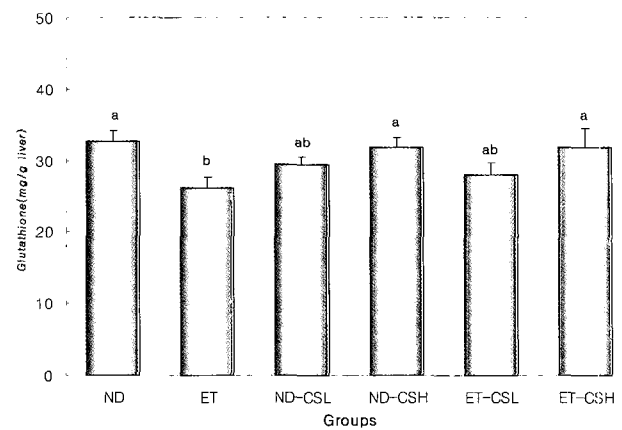


Fig. 2. Content of GSH in the liver of rats administered alcohol and/or CS ethanol extract.

Groups are the same as in Table 1.

Values are mean  $\pm$  SE of 6 rats per each group and different superscript letters indicate significant differences at  $p < 0.05$  by Tukey's test.

응을 유도하는 것으로 알려져 있다(33). Speisky 등(34)의 연구에 의하면 간조직 중에서 GSH 고갈이 가능한 기전으로는 항산화 작용으로 소모 되는 것 이외에도 알코올 대사산물인 acetaldehyde와 GSH가 결합한다고 설명하였다. 본 실험 결과 알코올 투여로 간조직의 GSH 함량은 감소되고, GSH-Px 활성은 증가되었는데 간 손상 시 GSH-Px 활성이 증가하여 GSH의 방출이 많으므로 조직의 GSH 함량이 감소한다는 Lee 등(35)의 보고와 일치하였다. 그리고 알코올 단독 투여한 ET군보다 알코올과 모과 에탄올 추출물 고용량 병합 투여한 ET-CSH군의 GSH 함량이 증가된 것은 모과 에탄올 추출물 투여가 알코올에 의해 생성된  $H_2O_2$  등의 free radical(36)을 소거하기 위해 GSH-Px 활성이 저하되고 GSH 소모량도 줄어들어 나타난 결과로 사료되어진다(37-39).

#### 요 약

모과 에탄올 추출물이 체내 항산화계에 미치는 효과를 구명하기 위하여 *in vivo*에서 모과 에탄올 추출물이 알코올 투여로 유도된 간조직 손상의 보호효과를 검토한 결과 4주간의 체중증가율과 체중에 대한 간 무게 비율은 유의적인 차이가 나타나지 않았지만, ET군이 다른 실험군에 비하여 다소 낮은 경향이였다. 식이효율은 ET군이 ND군에 비하여 유의하게 감소되었으나 알코올과 모과 에탄올 추출물을 단독 혹은 병합투여한 ET-CSL군과 ET-CSH군은 ND군의 식이효율과 비슷한 수치를 나타내었다. 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성은 알코올 투여한 ET군이 실험군들에 비하여 유의적으로 증가하였고, 알코올과 모과 에탄올 추출물을 병합 투여한 ET-CSL군과 ET-CSH군은 ET군에 비하여 저하되었다. 간조직 중 과산화지질 함량은 ET-CSL군과 ET-CSH

군이 ET군에 비해 유의적으로 감소하였으며, ND군과는 비슷한 수치를 나타내었다. 간조직의 XO, SOD, catalase 및 GSH-Px 활성은 알코올을 단독 투여한 ET군이 알코올과 모과 에탄올 추출물을 병합 투여한 ET-CSL군과 ET-CSH군에 비하여 증가하였으며, 모과 에탄올 추출물 투여 용량이 증가할수록 이들 효소의 활성도 농도 의존적으로 감소하였다. 또한 ET-CSL군과 ET-CSH군은 ND군과 이들 효소활성이 유사하였다. 간조직의 GSH 함량은 ET군이 ND군에 비하여 유의하게 감소되었으며, 알코올 투여로 감소된 GSH 함량은 모과 에탄올 추출물 투여로 ND군에 근접하도록 증가시켰다. 이상의 결과 모과 에탄올 추출물은 알코올 투여로 증가된 유리기 해독계 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px 활성은 억제시키고, GSH 함량은 증가시켰으며 지질과산화물 함량을 저하시켰다. 따라서 모과는 항산화제로서의 활용성과 알코올 투여로 손상된 간조직의 보호에 도움을 줄 수 있을 것이라는 가능성을 제시해 주었다.

## 문 헌

1. 경제기획원 조사 통계국. 2000. 2000년 사망원인의 통계 연보.
2. National Statistical Office. 1996. Annual report on the cause of death statistics. Korea.
3. Lee OH. 2004. Effects of supplementation of *Puerariae radix* ethanol extract on the antioxidative defense system in rats. *Korean J Nutr* 37: 872-880.
4. 이기열, 이양자. 1992. 고급영양학. 신광출판부, 서울. p 284-285.
5. Mezey E. 1980. Alcoholic liver disease; roles of alcohol and malnutrition. *Am J Clin Nutr* 33: 2709-2718.
6. Barene AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxytoluen butylated hydroxytoluen. *JAOCS* 52: 59-63.
7. 박중희, 이정규. 2000. 상용 약용식물도감. 신일상사, 서울. Vol 133, p 8-15.
8. Lee CB. 1982. Forest economics-mokchogangmok. Korean plant map. Hyangmunsa, Seoul. p 29.
9. Kim YS, Lee SW, Lee KR, Kim SK, Cho SY, Lee JH. 1971. Studies on tasty constituents in various foodstuffs. Part 1. Tasty constituents of chinese quince. *Korean J Food Sci Technol* 3: 163-167.
10. Chung TY, Cho DS, Song JC. 1988. Nonvolatile/volatile flavor components in chinese quince fruits, *Chaenomeles sinensis* Koehne. *Korean J Food Sci Technol* 20: 293-302.
11. Song JC, Cho EK, Park HJ. 2002. Studies on manufacture of mixed beverage drinks using chinese quince and apple. *Food Engineering Progress* 6: 38-45.
12. Lee DH, Kim JH, Kim NM, Choi JS, Lee JS. 2002. Physiological functionality of Chinese quince wine and liquors. *Korean J Biotechnol Bioeng* 17: 266-270.
13. Reeves PG, Nielson FH, Fahey GC Jr. 1993. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition adhoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123: 1939-1951.
14. Fujii H, Ohmachi T, Sagami I, Watanabe M. 1985. Liver microsomal drug metabolism in ethanol-treated hamsters. *Biochem Pharmacol* 34: 3881-3884.
15. Downey JM, Miura Y, Eddy LJ, Chambers DE, Mellert T, Hearse DJ, Yellon DM. 1987. Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 19: 1053-1060.
16. Crapo JD, McCord JM, Fridovich I. 1978. Preparation and assay of superoxide dismutase. In *Methods Enzymol.* Fleischer S, Packer L, eds. Academic press, New York. Vol 53, p 382-393.
17. Aebi H. 1984. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol* 105: 121-126.
18. Flohe L, Wolfgng A, Gunzler WA. 1984. Assay of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymatic analysis.* Packer L, ed. Academic Press, New York. p 14-121.
19. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology.* Dacker L, ed. Academic Press, New York. Vol 52, p 302-310.
20. Tietze F. 1969. Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal Biochem* 27: 502-522.
21. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic determination and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
22. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
23. Rothwell NJ, Stock MJ. 1984. Influence of alcohol and sucrose consumption on energy balance and brown fat activity in the rat. *Metabolism* 33: 768-771.
24. Shaw S, Lieber CS. 1983. Nutrition and alcohol. A clinical perspective. In *Nutrition Update.* Weininger J, Briggs GM, eds. John Wiley & Sons, New York. Vol 1, p 79-104.
25. Lim SS, Kim MH, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *orientalis* and *Cirsium japonicum* var *ussuriense* on liver function, body lipid and bile acid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 797-802.
26. Ahn YT, Bae JS, Kim YH, Lim KS, Huh CS. 2005. Effects of fermented milk intake on hepatic antioxidative systems in alcohol treated rats. *Korean J Food Sci Technol* 37: 631-635.
27. Lieber CS. 1991. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol. *Alcohol Clin Exp Res* 15: 573-592.
28. Vina J, Estrella JM, Guerro C, Romero FJ. 1980. Effects of ethanol on glutathione concentration in isolated hepatocytes. *Biochem J* 188: 549-552.
29. Cho SY, Lee MK, Park EM, Jang JY, Kim MJ. 1997. Effect of methionine levels on brain lipid peroxidation in ethanol-treated rats of selenium deficiency. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 109-115.
30. Oei HH, Stroo WE, Burton KP, Schaffer SW. 1982. Xanthin oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 38: 453-461.
31. Park MH, Son GM, Bae MJ. 1995. Effect of *Platycodi radix* and *Platycodi radix* saponin on liver lipid in rats fed high fat diet. *Korean J Food Nutr* 8: 222-229.
32. Ko MS, Shin KM, Lee MY. 2002. Effects of *Hijikia fusiforme* ethanol extract on antioxidative enzymes in ethanol-induced hepatotoxicity of rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 87-91.
33. Aykac G, Uysal M, Yalcin S, Kocak-Toker N, Sivas A, Oz H. 1985. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol* 36: 71-76.
34. Speisky H, Kera Y, Penttila KE, Israel Y, Lindros KO. 1988.

- Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcohol Clin Exp Res* 12: 224-228.
35. Lee JS, Kim ES, Kim SW. 1999. Effects of extract of *Pueraria radix* on peroxidation in ethanol-administered rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 901-906.
36. Lee JS, Kim ES, Kim SW. 1999. Effects of extract of *Pueraria radix* on peroxidation in ethanol-administered rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 901-906.
37. Oh SI, Kim CI, Chun HJ, Park SC. 1998. Chronic ethanol consumption affects glutathione status in rat liver. *J Nutr* 128: 758-763.
38. Lieber CS. 1980. Increased loss and decreased synthesis of hepatic glutathione after acute alcohol administration. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 17-21.
39. Park PS, Lee BR, Lee MY. 1994. Effects of onion juice on ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 750-756.

(2006년 9월 1일 접수; 2006년 11월 30일 채택)