

## 송화분이 Chloroform 투여 흰쥐의 혈청 및 간장에 미치는 영향

백경연 · 하은주 · 신해경 · 한준표<sup>†</sup>

대구가톨릭대학교 식품공학과

### Effect of Pine Pollen on the Chloroform Toxicity in Rat Serum and Liver

Kyung-yun Beik, Eun-ju Ha, Hae-kyung Shin and Joon-Pyo Han<sup>†</sup>

*Department of Food Science and Technology,*

*Catholic University of Taegu, Kyungsan 712-702, Korea*

#### Abstract

This study was attempted to investigate the effect of pine pollen on the chloroform toxicity in rat serum and liver. The subjects were administrated with the graded concentration of two different levels of chloroform(1%, 5%) and an additional amount of pollen(1%, 5%) to some groups. The results were as follows :

The activity of aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT) and lactate dehydrogenase(LDH) in serum, liver, and kidney increased in proportion to the chloroform concentration, but decreased in the pine pollen-treated groups.

The amount of total cholesterol in serum of the chloroform administration groups was higher than that of the control group, and it decreased gradually with pine pollen administration.

---

Key words: chloroform, pine pollen, AST, ALT, LDH.

#### I. 서 론

경제와 과학기술의 눈부신 발전으로 국민생활이 눈부시게 향상되고 이와 더불어 국민들의 건강에 대한 인식이 더욱 높아지고 있으며, 개개의 일상생활 개념으로 정착되어 오고 있으며, 개인의 식품선택에 크게 영향을 받고 있다. 그리고 건강을 지킨다는 것

은 현대인의 삶에 있어서 매우 중요하며, 가치있는 목표로 자리잡았으며 질병의 치료와 예방에 식품이 크게 관여한다는 것은 이미 널리 알려진 사실이다. 그래서 무엇을 어떻게 먹어야 될 것인가에 대해서 끊임없이 연구한 결과 각종 건강보조식품의 출현을 보게 되었다.

건강보조식품으로 널리 사용되고 있는 화분염에 대해서는 그 일반성분의 연구<sup>1-3)</sup> 및 임상학적 약리

효과<sup>4-5</sup>)가 많이 보고되고 있지만 송화분에 대한 보고는 미비한 실정이다.

한편 실험적 간장 장애를 일으키는 약물로 사용한 chloroform은 마취제, 항 경련제, 馬區風劑 등의 의약품으로 사용되어 왔으며, 산업용으로도 널리 쓰이는 화합물이다<sup>6</sup>).

인체에는 chloroform을 정맥주사하면 폐에 대한 독성과 급성용혈이 나타나고<sup>7</sup>), opendrop형식으로 흡입시에는 황달 및 심장혈관계의 억제 현상을 일으킨다는 임상보고가 있다<sup>8</sup>). 또한 간과 신장에서 지방변, necrosis을 일으키며 혈중으로 glutamic oxaloacetic transaminase와 glutamic pyruvic transaminase등의 유출을 일으킨다고 알려져 있다. 그리고 간에서 효소적으로 대사되며, glutathion 산화반응을 활성화시키며, phenobarbital 전처리에 의해 간손상은 상승되며 간에서 chloroform은 glutathion의 함량을 현저히 고갈시키기도 한다<sup>9</sup>).

Samochowiec 등<sup>10-14</sup>)은 화분에는 식물성 sterol류가 다량 함유되어 있고, 고지방 식이로 유도된 고지혈증에 미치는 화분의 영향을 쥐, 토끼, 인체를 대상으로 실험한 결과 혈액의 지방을 감소시킨다고 보고하였다. 국내에서의 화분연구현황은 화분의 기원식물에 관한 조사<sup>15</sup>), 봉밀과 화분의 순도 시험 및 성분조사<sup>16-18</sup>), 콜레스테롤대사에 미치는 영향<sup>19</sup>), 간 독성<sup>20-24</sup>)과 신장 장애<sup>25</sup>) 등의 치료와 같은 영양 생리학적 연구들이 주류를 이루고 있어 화분이 인체에 매우 유익하다는 결과가 많다.

따라서 본 연구는 널리 자생하고 있으며 옛부터 건강증진의 목적으로 이용되어 온 송화분을 경구 투여하여 실험동물의 생체내의 각종 대사에 영향을 미치는 효소활성과 혈청의 cholesterol을 측정하여 생체내의 해독작용에 대해 검토하고자 한다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 재 료

경북 칠곡군 야산 일대에서 채취한 송화분을 실온에서 48시간 자연 건조한 후 시료로 사용하였다.

### 2. 실험동물의 사육 및 시료조제

실험동물은 Sprague-Dawley종의 웅성 흰쥐를 10일간 고형사료로 적응시킨 후, Control군(CON), 1% Chloroform 단독투여군(CHL), 5% Chloroform 단독투여군(OCHL), 1% Chloroform과 송화분 병용투여군(CHLP), 5% Chloroform과 송화분 병용투여군(OCHLP)으로 나누어 난괴법에 의하여 각 군당 6마리씩 분리하여 7일간 사육하였다(Table 1).

사육실의 온도는  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도를 50% 전후로 유지하였으며, 조명은 12시간 주기로 명암을 조절하였다.

본 실험에 사용한 식이는 고형사료(삼양사 Co.)를 사용하였으며 실험기간 동안 자유롭게 섭취케 하였다.

Chloroform 투여는 체중 100g당 1ml씩 복강 내 주사하였고, 송화분은 체중 100g당 0.1g씩 경구 투여하였다.

실험동물은 실험종료 마지막날 12시간 동안 물만 주고 절식시킨 뒤 에테르로 마취한 후 개복하여 하대정맥으로부터 혈액을 채혈한 후 간장 및 신장을 적출하여 생리식염수로 세척한 후 여과지로 수분을 제거하였고 채혈한 혈액은 약 30분간 실온에서 방치한 후 3,000rpm으로 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 간장 및 신장은 0.9% NaCl용액으로 homogenate를 만들어 원심분리(3,600rpm, 30min) 후 그 상층액을 시료로 사용하였다.

### 3. 생화학 검사

Aspartate aminotransferase(AST)와 Alanine aminotransferase(ALT)의 활성은 Reitman-Frankel

Table 1. Design of experimental groups

Groups	Diet
CON	Normal diet
CHL	Normal diet + 1% chloroform <sup>1)</sup>
OCHL	Normal diet + 5% chloroform
CHLP	Normal diet + 1% chloroform + Pine Pollen powder <sup>2)</sup>
OCHLP	Normal diet + 5% chloroform + Pine Pollen powder

<sup>1)</sup>Rats were administrated abdominal intubation with chloroform(0.1ml/100g B. W.) at the same time once per days.

<sup>2)</sup>Rats were administrated abdominal intubation with chloroform(0.1ml/100g B. W.) at the same time once per days pine pollen powder.

방법<sup>(26)</sup>에 준하였고, lactate dehydrogenase(LDH)활성은 lactic acid를 기질로 nicotinamide adenine dinucleotide(NAD<sup>+</sup>)를 조효소로 이용하여 비색정량하였다.

혈청 Total cholesterol 함량은 Zak Dickman 방법<sup>(27)</sup>으로 측정하였다.

#### 4. 통계처리

모든 실험결과는 Mean±S.D.로 표시하였으며, 실험군간의 통계적 유의성 검정은 t-test를 통하여 검정하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 혈청 AST, ALT 활성 변화

Table 2에는 혈청의 AST, ALT 활성 변화를 나타내었다. Chloroform을 투여함으로써 모두 활성이 증가함을 보였고, 그 증가 정도도 chloroform 투여 농도가 높을수록 더 큰 것으로 나타났으며, AST 활성 변화에 있어서는 유의적인(P<0.01) 증가를 보였다. OCHL군의 경우에는 그 증가 정도가 매우 컸으며 송화분을 함께 투여하였을 경우에도 대조군과 비슷한 수준의 감소경향을 띄었으나 유의적이지는 않았고, CHLP군에서만 대조군에 비해 유의적인 감소경향(P<0.05)을 보였다. 이와 같은 결과는 권 등

**Table 2.** Effect of Pine Pollen on the serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase activities of chloroform-treated rats (Karmen unit/ml)

Groups <sup>1)</sup>	AST	ALT
CON	114.4 ± 4.35 <sup>2)</sup>	26.9 ± 5.71 <sup>NS</sup>
CHL	130.9 ± 6.15	28.8 ± 4.84
OCHL	133.2 ± 6.52*	31.9 ± 5.69
CHLP	101.9 ± 6.11**	28.7 ± 4.16
OCHLP	104.9 ± 5.51	29.5 ± 5.98

<sup>1)</sup> Refer the legend to Table 1.

<sup>2)</sup> All values are mean±S.D.(n=6).

Significantly different from Control group

\*P<0.01, \*\*P<0.05.

<sup>NS</sup> : Not significant

**Table 3.** Effect of Pine Pollen on the serum lactate dehydrogenase activities of chloroform-treated rats (Wroblewski unit/ml)

Groups <sup>1)</sup>	LDH
CON	559.3 ± 13.40 <sup>2)NS</sup>
CHL	562.5 ± 14.15
OCHL	587.9 ± 13.77
CHLP	546.1 ± 10.52
OCHLP	567.8 ± 17.36

<sup>1)</sup> Refer the legend to Table 1.

<sup>2)</sup> All values are mean±S.D.(n=6).

Significantly different from Control group

\*P<0.01, \*\*P<0.05.

<sup>NS</sup> : Not significant

<sup>25)</sup>의 화분립을 투여한 연구결과와 거의 비슷한 수준이었다.

ALT의 활성 변화에서도 대조군에 비해 chloroform 투여 농도가 높을수록 증가하였으며, 모두 대조군에 비해 낮거나 비슷한 수치를 나타내는 것으로 보아 송화분이 이들 효소의 활성을 저하시킴을 알 수가 있었다.

#### 2. 혈청 LDH 활성 변화

LDH는 단일효소체가 아니라 수개의 isozyme의 혼합체를 구성되어 있음을 Wielands<sup>(28-29)</sup>가 보고한 바 있으며, LDH에 대한 연구는 많이 되어 있다. 혈청 LDH 활성은 chloroform 단독투여군에서는 증가의 경향을 보이고, chloroform과 송화분 병용투여군에서는 대조군에 비해 증가와 감소의 경향을 보이긴 하였으나 유의성은 인정되지 않았다.

#### 3. 혈청 Total cholesterol 수준

Total cholesterol 수준의 변화는 Table 4에서 보여주는 것과 같다. Chloroform 투여 농도가 증가할수록 total cholesterol 수준이 증가함을 볼 수 있는데, 이는 chloroform이 조직의 cholesterol 합성을 증가시킨다는 Popper<sup>(30)</sup>와 권<sup>(25)</sup> 등의 보고와 일치하였다. 송화분을 함께 투여한 군에서는 chloroform 단독투여군에 비해서 total cholesterol 수준이 적었으며 CHLP 군은 대조군보다도 오히려 그 수준이 낮았으나, OCH-

**Table 4.** Effect of Pine Pollen on the serum total cholesterol of chloroform-treated rats (mg/dl)

Groups <sup>1)</sup>	Total cholesterol
CON	35.7 ± 7.22 <sup>2)NS</sup>
CHL	40.4 ± 5.19
OCHL	43.5 ± 9.03
CHLP	29.7 ± 5.96
OCHLP	37.9 ± 3.97

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±S.D.(n=6).

Significantly different from Control group

\*P<0.01, \*\*P<0.05.

NS : Not significant

LP군은 대조군과 비슷한 수치를 보였고, chloroform 단독 투여한 CHL, OCHL군보다 모두 그 수준이 낮은 것으로 나타났으나 유의성은 없었다.

이와 같은 결과는 Munro<sup>31-33)</sup> 등이 식이 중 단백질 함량과 종류가 혈청 및 간조직의 cholesterol 수준에 많은 영향을 주며, 식물성 단백질 섭취군이 동물성 단백질 섭취군보다 간 및 혈청 cholesterol 수치를 낮추어 준다는 보고와 같이 송화분이 식물성 단백질이 풍부하게 포함된 것이 그 원인이 아닌가 사료된다.

**4. 간 조직 중의 AST, ALT 및 LDH 효소 활성 변화**

Table 5에서 간 조직 중의 효소활성 변화를 보면 성이 증가함을 보였고, 그 증가 정도도 chloroform의 투여농도가 높을수록 더 큰 것으로 나타났으나 AST, ALT, LDH 모두 chloroform을 투여함으로 활성 변화에서만 유의성이 인정되었다. AST, ALT의 활성 변화는 CHLP, OCHLP군의 경우는 대조군과 거의 비슷한 수준을 나타내는 것으로부터 송화분이 이들 효소의 활성을 저하시킴을 알 수 있었다.

이와 같은 결과는 이 등<sup>34)</sup>의 사염화탄소 투여로 인해 효소활성 증가를 보였으나 송화분 병용 투여로 감소를 나타낸 결과와 일치하였다. 그러나 LDH 활성도에서는 chloroform 단독 투여군에 비해 송화분 병용투여군에서 뚜렷한 감소의 변화는 관찰할 수 없었다.

**5. 신장 AST, ALT 및 LDH 활성도 변화**

Table 6에서 보는 바와 같이 AST 활성은 각 군간의 유의성은 인정되지 않았으나 OCHL군에서는 대조군보다 유의적으로(p<0.05) 증가를 나타내었다. 또한 ALT 활성은 송화분을 병용 투여한 군(CHLP)이 CHL, OCHL군에 비해 감소하여 송화분이 chloroform 투여로 증가된 ALT 활성을 저하시킴을 알 수가 있었다.

LDH 활성은 각 군간에 유의성이 인정되지 않았으나 송화분 투여로 증가된 효소의 활성도를 저하시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

**Table 5.** Effect of Pine Pollen on the liver aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase activities of chloroform-treated rats

Groups <sup>1)</sup>	AST	ALT	LDH
	(Karmen unit/ml)		(Wroblewski unit/ml)
CON	40.8 ± 1.48 <sup>2)</sup>	36.6 ± 2.41 <sup>NS</sup>	851.6 ± 14.88
CHL	43.2 ± 1.25**	41.7 ± 1.99	869.8 ± 20.76
OCHL	44.1 ± 1.10**	42.7 ± 3.11	878.0 ± 17.15
CHLP	40.0 ± 1.94 <sup>++</sup>	37.6 ± 1.14	872.2 ± 14.88
OCHLP	41.4 ± 0.55 <sup>++</sup>	38.4 ± 1.95	875.9 ± 13.11

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±S.D.(n=6).

Significantly different from Control group \*P<0.01, \*\*P<0.05.

Significantly different from Chloroform only treated group ++P<0.05

NS : Not significant

**Table 6.** Effect of Pine Pollen on the kidney aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase activities of chloroform-treated rats

Groups <sup>1)</sup>	AST	ALT	LDH
	(Karmen unit / ml)		(Wroblewski unit/ml)
CON	54.6 ± 3.01 <sup>2)</sup>	37.2 ± 1.30	848.7 ± 14.26 <sup>2)NS</sup>
CHL	57.2 ± 2.49	39.5 ± 2.12	849.3 ± 9.79
OCHL	59.8 ± 2.05**	39.2 ± 2.17	844.0 ± 2.52
CHLP	56.0 ± 2.35	33.4 ± 1.14**	829.1 ± 10.47
OCHLP	57.3 ± 2.59	36.8 ± 1.10**	836.6 ± 11.65

<sup>1)</sup>Refer the legend to Table 1.

<sup>2)</sup>All values are mean±S.D.(n=6).

Significantly different from Control group \* P<0.01, \*\*P<0.05.

Significantly different from Chloroform only treated group \*\*P<0.05

#### IV. 요약

본 실험에서는 송화분이 생체 내 대사에 미치는 영향을 조사하기 위하여 혈청 및 조직의 AST, ALT, LDH 활성과 혈청 total cholesterol 량의 변화를 측정된 결과 혈청 AST 활성은 control군의 수치가 높은 경향이 있었으나 간장 AST 활성과 함께 송화분의 투여로 chloroform 투여군에 비해 감소하였으며, 신장에서 AST 활성이 유의성 있게 감소하였고, LDH와 total cholesterol은 송화분의 투여로 감소하는 경향은 있었으나 유의성은 인정되지 않았다.

이로써 한방이나 민간요법으로 사용해 왔던 건강식품의 하나인 송화분을 현대 영양생화학적인 차원에서 그 효능을 증명하고자 함은 그 의의가 크다고 생각된다.

#### V. 참고문헌

1. Hong Keun Chung, Ki Yung Lee : A study of the Chemical Constituents of Ciymnosperm pollens. The Seoul J. of Med, 18(2), 125-136, 1997.
2. Taichi Ohmito : Studies on the constituents of pollen II. On the constituents of pollen grains of *Ambrosia elatior* L.(1). Yakugaku Zasshi, 94, 362-366, 1994.

3. Taichi Ofmito, Tamotsu Nikaido and Masa Ikuse : Studies on the Constituents of Pollen. III. On the Constituents of Pollen Grains of *Alnus japonica* Steud(1). Yakugaku Zasshi, 94 (3), 367-370, 1974.
4. Poovaish B. P. and S. T. Omaye : Inhibition of thiobarbituric acid reactive products in rat liver homogenate by extracts from pollen grains. Proc. West. Pharmacol. Soc., 30, 67-69, 1987.
5. Samochowiec, L. and Wojcicki, J. : Effet of pollen on serum and liver lipids in rats fed on a high-lipid diet. Herba pollen, 29, 333-339, 1981.
6. Windholz, M. et al : Chloroform. The Merck Index, 10th ed., Merck & Co., Rah way, n. J., U.S.A., 300-301, 1983.
7. Times, R. M. et al. : Toxicity secondary to intravenously administered chloroform in humans. Arch. Intern. Med., 135, 1601-1603, 1975.
8. Defalque, R. J. : The first delayed chloroform poisoning. Anest. Analy(Cleveland), 47(4), 374-375, 1968.
9. 허인회 : 독성학. 신일상사, 238, 1993.
10. Samochowieci, L. and Wojcicki, J. : Effect of pollen serum and liver lipids in rat fed on a high-lipid diet. Herba Polonica, 27, 333, 1981.

11. Samochowieci, L. and Wojcicki, J. : Influence of cernitin extracts on serum and liver lipkds on rats fed on a high-lipid diet, *Herba Polonica*, 29, 165, 1983.
12. Wojcicki, J., Kosmider, K., Samochowiec, L. and Woyke, M. : Clinical evalulation of cernilton as lipid-loweving agent. *Herba Polonica*, 29, 55, 1983.
13. Kosmider, K., Wojcicki, J., Samochowiec, L., Woyke, M. and Gornik, W. : Effect of cernilton on platelet aggregation *in vivo*. *Herba Polonica*, 29, 237, 1983.
14. Wojcicki, J., Samochowiec, L., Bartlowicz, B., Hinek, A., Jaworska, M and Gawronskalarz, B. : Effect of pollen extract on the development of experimntal atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis*, 62, 39, 1986.
15. 석귀덕, 김미경 : 봉밀 및 화분하의 기원 식물. *생약학회지*, 14, 83, 1983.
16. 김정우, 신상철, 김병각 : 건강식품으로서 화분 제제에 관한 연구(제1보). *생약학회지*, 15, 147, 1984.
17. 김정현, 이규환, 김을상, 박성배 : 화분하의 성분 조성에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, 21, 566, 1992.
18. 석귀덕, 김미경 : 봉밀 및 화분하의 순도 시험과 성분 조사. *생약학회지*, 14, 197, 1983.
19. 정영건, 윤수홍, 권정숙, 배만중 : 화분립의 영양 생화학적 연구. 1. 헤바라기 화분립의 지질 조성 과 Mouse 간장 콜레스테롤 대사에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, 13, 169, 1984.
20. 권정숙, 윤수홍 : Chloroform에 의한 Rat의 간 및 신장장애에 미치는 화분립의 영향-병리학적 소견. *한국영양식량학회지*, 15, 229, 1986.
21. 권정숙, 조수열, 박종민, 허근 : 화분의 영양생화 학적 연구-진달래 화분이 간 Aniline Hydroxyl-ase 활성화에 미치는 영향. *한국영양식량학회지*, 18, 93, 1989.
22. 권정숙, 조수열, 정형재, 박종민, 허근 : 화분이 영양생화학적 연구-Anilline이 유도한 간 특성에 미치는 진달래 화분의 영향. *한국영양식량학회지*, 18, 239, 1089.
23. 윤수홍, 강정혜, 권정숙 : 사업화탄소로 인한 간 독성에 미치는 진달래 화분의 영향. *한국영양식 량학회지*, 18, 363, 1989.
24. 윤수홍, 박은주 : 천연 자원을 이용한 간기능 증 진제 개발 연구-Aromatic toxicants에 의해 유도 된 간기능 장애에 미치는 진달래 화분립의 영향. *한국영양식량학회지*, 21, 341, 1992.
25. 권정숙, 윤수홍 : 화분립이 영양생화학적 연구 -Chloroform에 의한 Rat의 간 및 신장 장애에 미 치는 영향. *한국영양식량학회지*, 15(3), 235~242, 1986.
26. Reitman, S. and Fran Kel, S. : A colorimetric method for determination of serum glutamic oxallacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 58, 1957.
27. Zak, B., Dickeman, R. C. : Rapid estimation of free and total cholesterol. *Amer. J. Clin. Path.*, 24, 1307-1315, 1954.
28. Wieland, T. : *Biochem. Z.*, 329, 122, 1953.
29. Krutzer, H. H. : *Clinica, Chimica. Acta.*, 11, 159, 1965.
30. Popper, H. : Drug-induced Hepatic Injury. *Ann. Int. Med.*, 51, 1201, 1959.
31. Munro, H. N. : *Proc. Netr. Soc.*, 23, 12, 1964.
32. Prather, E. S. : *J. Am. Dietetic Ass.*, 47, 187, 1965.
33. *Ann. J. Y. : Kor. J. Nutr.*, 2, 4, 143, 1952.
34. 이해경 · 하은주 · 한준표 : 송화분을 이용한 간 기능 증진제 개발 연구. *효성여자대학교 연구논 문집*, 47, 359-363.