

매실 추출물이 알코올 투여 흰쥐의 항산화계 및 지질과산화에 미치는 영향

이정현 · 나명순 · 이명렬[†]
 조선대학교 식품영양학과

Effects of Ethanol Extract of *Prunus mume* on the Antioxidative System and Lipid Peroxidation on Ethanol-Induced Hepatotoxicity in Rat Liver

Jung Hyun Lee, Myung Soon Na and Myung-Yul Lee[†]
 Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

Abstract

To investigate the antioxidative effects of *Prunus mume* ethanol extract on the ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver, Sprague-Dawley rats weighing 120~160 g were divided into 5 groups; normal group(NOR), *Prunus mume* ethanol extract 200 mg/kg treated group(PME), ethanol(10 mL/kg, 35%) treated group(ETH), *Prunus mume* ethanol extract 200 mg/kg and ethanol treated group (PML) and *Prunus mume* ethanol extract 400 mg/kg, and ethanol treated group(PMH), respectively. The antioxidative activity *in vitro* was reduced in order of EtOAC> n-BuOH> n-hexane> water> chloroform fraction. The growth rate and feed efficiency ratio decreased by ethanol administration were gradually increased to the adjacent level of NOR by administering *Prunus mume* ethanol extract. It was observed that activities of catalase, superoxide dismutase(SOD), xanthine oxidase and glutathione peroxidase(GSH-Px) of liver and alanine aminotransferase(ALT) and aspartate aminotransferase(AST) of serum were elevated by ethanol administration. Besides, *Prunus mume* ethanol extract markedly decreased elevated activities of catalase, GSH-Px, ALT and AST, except in activities of SOD and xanthine oxidase compared to ETH. Also, the depleted content of GSH by ethanol was increased similar to NOR level by administering *Prunus mume* ethanol extract. These results suggested that *Prunus mume* ethanol extract has a possible protective effect on the ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver.

Key words : protective effect, hepatotoxicity, TBA-reactants, antioxidative activity

서 론

매화나무(*Prunus mume* Sieb. et Zucc)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽활엽교목으로 이 나무의 핵과를 매실이라 한다. 원산지는 중국의 사천성과 호북성의 산간지로 알려져 있으며 한국, 중국 및 일본 등에 널리 분포되어 있다(1-2). 매화나무의 꽃(매화꽃)은 관상용으로 인기가 높아 전남 광양에서는 매년 봄에 매화꽃 축제가 열리고 있으며 또한 매실은 풍부한 유기산과 rutin같은 성분 등을 다량 함유하고 있는 알칼리성 식품으로서 항균활성, 피로회복, 식욕증진 및 해독(3) 등의 효과가 있다하여 민간약으로서의 이용성이 높아지고 있다. 매실은 예로부터 매실김치, 술, 액기스, 잼, 차 등 각종 식품으로 개발되어 왔으며 말린 매실은 오매라 하여 한방에서 해독 및 구충(4) 등에, 또한 뿌리, 잎, 꽃, 미숙 과실 등은 건위, 지갈, 거담, 해독, 주독, 소독 등에 효과가 있다하여 약제로 널리 이용되고 있다(5). 이(6) 등은 매실이 한

국산 다른 과일에 비하여 유기산 함량이 풍부함을, 문(7) 등은 성숙과정 중 품종별 매실의 크기 및 과육과 종자 중의 성분변화를, 송(8) 등은 매실의 중요 향기 성분으로 malic acid 등의 유기산 물질의 관련성을, 권(9) 등은 매실과육의 향기성분으로 benzaldehyde, terpinen-4-ol, benzyl alcohol, hexadecanoic acid 등을 보고한 바 있다. 최근 강(10) 등이 매실과육과 매실착즙박의 이화학적 특성을, 차(11) 등이 매실의 숙성중 유기산, 유리당 및 유리 아미노산의 변화를, 배(12) 등이 매실추출물을 함유한 기능성 음료 개발 등 많은 연구가 보고되고 있다. 효능연구로는, 윤(13) 등이 혈중 젖산농도 및 혈청 지질에 미치는 영향, 서(14-15) 등이 간장애 및 당뇨병에 미치는 영향, 배(16) 등이 식중독 유발 세균의 증식에 미치는 영향을 보고하였으며, 심(17) 등이 *in vitro*에서 매실추출물의 항산화력 탐색을, 최근 한(3) 등이 매실의 항산화활성 물질인 rutin을 순수분리 등 많은 연구가 보고되고 있다. 그러나 매실의 *in vivo*에서의 각종 효능에 관한 체계적인 연구는 아직도 미진한 편이어서 이에 대한 매실의 생리학적 작용은 정확히 알려져 있지는 않으나 최근 항산화계 기능을 하는 것으로 알려진 구연산이나 베타카로틴, vitamin E 등이 풍부

[†]Corresponding author. E-mail : mylee@mail.chosun.ac.kr,
 Phone : 82-62-230-7722, Fax : 82-62-225-7726

한 것으로 알려진 매실이 노화, 항암 등 성인병에 유효한 영향(18-19)을 미칠 것으로 사료된다. 따라서 본 연구에서는 최근 자연 건강식품에 대한 소비자의 관심이 높아지면서 약용식품으로서 효능이 재평가되고 있는 매실을 재료로 매실에 존재하는 천연 기능성 물질을 추출하고 *in vitro*에서 항산화력을 검색하여 천연항산화제로써의 개발가능성을 제시하고, 또한 *in vivo*에서 에탄올로 유발된 흰쥐 간의 세포적 손상에 미치는 영향을 검토하여 성인병 치료의 보조요법이나 예방을 위한 기능성 물질로 이용하기 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

매실(*Prunus mume*)은 2002년 봄 전남 광양 청매실농원에서 신선한 것을 구입하고 과육을 분리하여 음건 후 시료로 사용하였다. 시료를 에탄올로 추출한 후 여과하고 여액을 농축하여 n-hexane, chloroform, EtOAc 및 n-BuOH로 계통분획·분리하였다. 각 분획을 45°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator로 용매를 제거한 후 감압농축하고 건조시켜 Rancimat 676(Metrohm, Swiss)로 항산화력을 측정하여 상호 비교하였다(Table 1). Antioxidant index(AI)는 각 분획을 첨가한 실험구의 유도기간을 대조구의 유도기간으로 나눈 값으로 구하였다.

Table 1. Compositions of experimental diet

Groups	Diet Composition
NOR ¹⁾	basal diet ¹⁾
PME	basal diet + PTL ³⁾
ETH	basal diet - + EtOH ⁴⁾
PML	basal diet + PTL + EtOH
PMH	basal diet + PTH ⁵⁾ + EtOH

¹⁾ NOR : normal group.

²⁾ According to AIN-76 diet composition.

³⁾ PTL : *Prunus mume* ethanol extract (200 mg/kg, b.w/day).

⁴⁾ EtOH : ethanol 35% (10 mL/kg, b.w/day).

⁵⁾ PTH: *Prunus mume* ethanol extract (400 mg/kg, b.w/day).

실험동물 및 처치

체중 120~160 g 정도의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 1주일간 고형배합사료(삼양사료)로 적응시키고, 난괴법(randomized complete block design)으로 한 군당 10마리씩 선별하여 정상군(NOR), 매실 에탄올추출물 200 mg/kg투여군(PME), 알코올투여군(35% ethanol 10 mL/kg, b.w/day, ETH), 알코(35% ethanol 10 mL/kg, b.w/day) 및 매실 에탄올추출물 200 mg/kg 병합투여군(PML)과 알코올(35% ethanol 10

mL/kg, b.w/day) 및 매실 에탄올추출물 400 mg/kg 병합투여군(PMH)의 5군으로 나누어 6주간 사육하였다(Table 2). 알코올 투여는 Fujii 등(20)의 방법에 따라 35% 에탄올을 10 mL/kg, b.w/day의 수준으로, 매실 에탄올추출물은 예비실험을 토대로 하여 체중 kg 당 200 mg 및 400 mg이 함유되도록 생리식염수에 용해시켜 6주간 경구투여하였다. 실험기간 중 동물의 상태를 관찰하면서 체중은 1주일 간격으로, 식이섭취량은 2일 간격으로 측정하였으며, 사육기간의 체중 증가량을 동일기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군의 식이효율(feed efficiency ratio, FER)을 계산하였다. 실험동물은 처치 전 16시간 동안 절식시킨 후 diethyl ether 마취하에 경동맥으로부터 혈액을 채취하였으며, 간은 적출하여 0.9 % 생리 식염수에 남아 있는 혈액 및 기타 물질을 제거하고 여지로 수분을 제거하여 무게를 측정한 후 -70°C의 deep freezer에 보관하면서 효소 활성 측정에 사용하였다. 실험기간 동안 고형사료 및 물은 자유로이 섭취토록 하였다.

Table 2. Antioxidative activity of each fraction of *Prunus mume* ethanol extract on soybean oil

Fraction ¹⁾	IP ²⁾	AI ³⁾
control	7.83 h	1.00
n-hexane	9.39 h	1.20
chloroform	7.82 h	0.99
EtOAc	11.20 h	1.44
n-BuOH	10.90 h	1.40
Water	8.07 h	1.02

¹⁾Fractions were separated by separatory funnel.

²⁾ IP: Induction period (hr) of oil was determined by Rancimat test at 110°C.

³⁾AI: antioxidant index was expressed as IP of soybean oil (control) containing various fraction.

효소원조제

간 조직 1 g당 4배량의 0.25 M sucrose buffer(pH 7.5)를 가하여 빙 냉하에서 ultra turax homogenizer(10,000 × g, 2분)로 마쇄하였다. 이 마쇄액의 일부는 thiobarbituric acid-reactants (TBARS)량 측정에 사용하고 나머지는 4°C, 600 × g 에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 후 상정액을 15,000 × g에서 20분간 원심분리하여 superoxide dismutase(SOD), catalase, xanthine oxidase 및 glutathione peroxidase(GSH-Px)활성측정의 효소원으로 사용하였다. 혈청은 분리하여 alanine aminotransferase(ALT) 및 aspartate amino transferase(AST)활성을 측정하였다.

효소활성 측정

간조직 중의 xanthine oxidase 활성은 Downey 등(21)의 방법, SOD활성은 Crapo 등(22)의 방법, catalase활성은 Aebi(23)의 방법, GSH-Px활성은 Flohe 등(24)의 방법으로 측정하였

다. 과산화지질 함량은 malondialdehyde량을 thiobarbituric acid 로 비색정량하는 Buege 와 Aust의 방법(25), glutathione함량은 Tietze의 방법(26)으로 측정하였다. 혈청중의 ALT 및 AST활성은 Reitman- Frankel 방법(27)에 의하여 조제된 아산 제약 kit를 사용하여 측정하였다.

단백질 정량 및 실험결과의 통계처리

단백질의 정량은 Lowry등의 방법(28)에 준하여 bovine serum albumin(Sigma Fr.v)을 표준품으로 하여 측정하였으며, 실험결과는 SPSS Package를 이용하여 실험군당 평균 ± 표준 오차로 표시하였으며 통계적 유의성 검정은 일원배치 분산 분석(one-way analysis of variance)을 한 후 p<0.05 수준에서 Tukey(T) test를 이용하여 상호 검정하였다.

결과 및 고찰

각 분획의 항산화력 측정

Soybean oil에 대한 매실 에탄올추출물의 분획별 항산화력을 측정한 결과는 Table 2와 같다. AI(antioxidant index)는 EtOAC가 1.44, n-BuOH가 1.40, n-hexane이 1.20, water가 1.02 및 chloroform이 0.99로 EtOAC분획이 가장 우수하였고 chloroform 분획을 제외한 전분획에서 대조군보다 높은 항산화력을 나타냈는데 이는 매실에 함유된 항산화성 물질이 주로 EtOAC와 n- hexane층에 많이 이행됐음을 알 수 있었다.

체중증가율과 식이효율

주별 각 실험군의 체중증가율 및 식이효율은 Table 3 및 4와 같다. 알코올만을 투여한 ETH는 6주동안 정상군인 NOR과 매실 에탄올추출물만을 투여한 PME에 비하여 유의하게 체중증가율이 둔화되었다. 특히 6주에서 NOR에 비하여 약 34.1 % 정도 체중증가율이 둔화되었다. 알코올과 매실 에탄올추출물을 병합투여한 PML과 PMH는 2주까지는 ETH에 비하여 유의적인 체중증가율을 보였고 그 후부터는 다소 상승되는 경향을 나타냈으나 유의적인 변화가 없었다. 식이효율에서 ETH는 NOR에 비하여 유의적인 저하를 나타냈으나 타군들은 NOR과 유사하였다. 본 실험에서 알코올투여군의 체중증가율이 정상군에 비하여 유의적으로 둔화되었는데 이 현상은 Shaw(29)나 Halsted(30)의 보고처럼 만성적인 알코올섭취로 소화관 점막이 손상되고 이로 인하여 영양소 흡수가 저하될 뿐만 아니라 알코올을 과량 섭취시 높은 열량 공급으로 인하여 식사량이 감소되어 나타난 결과로 생각된다. 또한 알코올을 투여하여 발생한 식이효율의 저하현상은 알코올을 투여하므로써 산소 소비량이 증가되고 알코올이 생산하는 에너지가 비효율적으로 이용되기 때문인 것으로

로 생각된다(31). 본 실험에서 매실 에탄올추출물 투여로 알코올투여로 둔화된 체중증가율과 저하된 식이효율이 정상군에 근접하도록 증가되었는데, 이 결과를 통하여 매실 에탄올추출물이 알코올에 의한 간세포독성을 차츰 해독 및 완화시킬 수 있을 것으로 판단되며 앞으로 이에 대한 체계적인 실험이 요구된다.

Table 3. The growth rate of rats with alcohol and *Prunus mume* ethanol extract

Groups	Weeks						
	0	1	2	3	4	5	6
NOR ^a	0	1.309±0.026 ^{2a3)}	1.362±0.012 ^a	1.433±0.014 ^a	1.509±0.052 ^a	1.711±0.018 ^a	1.918±0.01 ^a
PME	0	1.110±0.008 ^b	1.244±0.012 ^b	1.323±0.069 ^f	1.475±0.015 ^b	1.560±0.073 ^{ac}	1.723±0.005 ^b
ALC	0	1.042±0.025 ^c	1.059±0.019 ^f	1.091±0.038 ^b	1.228±0.014 ^b	1.249±0.051 ^b	1.265±0.065 ^b
PML	0	1.107±0.017 ^b	1.181±0.019 ^b	1.264±0.015 ^b	1.318±0.085 ^b	1.354±0.031 ^{bc}	1.367±0.051 ^b
PMH	0	1.114±0.015 ^b	1.215±0.038 ^b	1.323±0.050 ^b	1.332±0.932 ^b	1.446±0.031 ^c	1.450±0.086 ^b

¹⁾ Growth rate (W1/W0):Ratio of the body weight (W1) to initial body weight (W0), Values are mean ± S.E. of 10 rats per each group.

²⁾ See the legend of Table 1.

³⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05) between groups by Tukey(T) test.

Table 4. The feed efficiency ratio (FER) of rats with and *Prunus mume* ethanol extract

Groups Contents	Groups				
	NOR ¹⁾	PME	ALC	PML	PMH
FER ²⁾	0.137±0.005 ³⁾	0.138±0.008 ^a	0.074±0.018 ^b	0.122±0.005 ^a	0.134±0.014 ^a

¹⁾ See the legend of Table 1.

²⁾ FER (feed efficiency ratio) : The total amount of weight increased/the total intake of food. Values are mean ±S.E. of 10 rats per each group.

³⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05) between groups by Tukey(T) test.

혈청중 ALT 및 AST활성

흰쥐에 알코올 및 매실 에탄올추출물을 6주간 투여하여 간기능의 지표로 이용되고 있는 혈청중 ALT 및 AST활성을 측정한 결과는 Table 5와 같다. ALT활성에서, PME(22.98±1.73)는 NOR(27.41±2.30)에 비하여 다소 저하되었으나 알코올투여군인 ETH(36.94±1.29)은 NOR에 비하여 유의하게 상승되었다. 그러나 알코올과 매실 에탄올추출물을 병합투여함으로써(PML 27.09±1.90과 PMH 26.84±0.65) 알코올투여로 상승된 ALT활성을 유의하게 저하시켰으며 정상군의 활성에 근접하였다. AST활성도 ALT활성변화와 유사한 경향을 나타냈다. 혈청중 ALT와 AST활성의 상승은 지질대사의 저해로 간세포 괴사 및 간조직 파괴가 진행됨에 따라 간중의 aminotransferase가 혈중으로 유출됨으로써 높은 활성을 나타내는 것으로 보고되었는데(32-33), 본 실험에서 매실 에탄올추출물 200 mg/kg을 투여한 PME의 경우 혈청중 ALT 및 AST활성이 정상군과 별

다른 변화를 나타내지 않았는데, 이 결과에서 본 실험에서 투여한 양으로는 간독성이 유발되지 않을 것으로 여겨지며, 또한 알코올과 매실 에탄올추출물 병합투여로 알코올투여로 상승된 ALT 및 AST활성이 정상군에 근접되도록 유의하게 저하되었음은 매실 에탄올추출물이 알코올투여로 손상된 간 세포 기능을 점차 회복시킬 수 있을 것으로 생각된다.

Table 5. The activities of ALT and AST in serum of rats administered alcohol and *Prunus mume* ethanol extract

Enzyme activities	6 weeks				
	NOR ¹⁾	PME	ETH	PML	PMH
ALT ²⁾	27.41±2.30 ³⁾	22.98±1.73 ^a	36.94±1.29 ^b	27.09±1.90 ^a	26.84±0.65 ^a
AST ²⁾	123.67±4.63 ^a	119.90±5.64 ^a	158.74±8.97 ^b	127.56±8.45 ^a	125.7±4.21 ^a

¹⁾See the legend of Table 1.

²⁾Karmen unit/mL of serum.

Values are mean ± S.E. of 10 rats per each group.

³⁾Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$) between groups by Tukey(T) test.

간조직중 항산화효소활성

호기성 세포에서는 superoxide radical(O₂⁻), hydroxyl radical(OH) 및 hydrogen peroxide(H₂O₂)가 발생할 수 있으며 어떤 유해물질이나 약물 등에 폭로되었을 때나 병적 상태에서는 이들이 과다하게 생성되어 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다(34). 일반적으로 oxygen free radical에 의한 조직 손상은 oxygen free radical의 생성계와 해독계의 불균형에 의하여 야기되어 지는데(35-39) 본 실험에서 유리기 생성에 관여하는 효소인 xanthine oxidase(XO)활성과 해독에 관여하는 효소인 SOD, catalase 및 GSH-Px활성을 측정 한 결과는 Table 6과 같다. 유리기 생성계 효소인 XO활성에서, PME(26.65±6.12)는 NOR(28.98±2.22)에 비하여 별다른 차이를 보이지 않았으나 알코올투여군인 ETH(43.45±1.00)는 NOR에 비하여 유의하게 상승되었다. 그러나 알코올과 매실 에탄올추출물병합투여한 PML과 PMH(40.05±9.02, 39.87±4.81)는 알코올투여로 상승된 XO활성이 저하는 되었지만 유의성있는 변화는 나타내지는 못했다. XO는 xanthine 혹은 hypoxanthine과 반응하여 노산을 생성되고 이 노산은 체내에서 항산화작용을 나타내지만 만일 노산이 다량 생산되어 관절에 축적되면 통풍이 유발되고 심한 통증이 유발된다(40-41). 본 실험에서 알코올투여로 XO활성이 상승되었음은 알코올을 환취에 만성적으로 투여시 XO활성이 상승된다는 보고(42)와 일치하나 본 실험에서 알코올과 매실 에탄올추출물 병합투여군이 알코올투여로 상승된 XO활성을 유의하게 저하시키지 못했음은 매실 에탄올추출물이 유리라디칼의 생성 억제와 더불어 XO활성 저해작용에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

유리기 해독계 효소활성에서, catalase활성은 ETH(6874.00±509.6)가 NOR(4789.00±439.9)에 비하여 유의적으로 상승되었

으나 알코올과 매실 에탄올추출물을 병합투여한 군(PML 4807.00±279.2, PMH 4698.00±300.6)은 ETH에 비하여 활성을 유의성있게 저하시켰다. Catalase는 대부분의 조직에 존재하는 peroxisome(43)에서 H₂O₂를 무독성의 H₂O로 환원시켜 H₂O₂ 증가에 따른 조직 손상을 방어하는 효과가(44)있으며, GSH-Px에 비해 Km값이 높기 때문에 H₂O₂의 농도가 높을 때 주로 작용한다(45-46). 본 연구에서 알코올투여로 catalase 활성이 상승된 것은 H₂O₂와 같은 유리라디칼 생성이 증가된 것으로 생각된다. SOD활성은 ETH(30.24±1.93)가 NOR(22.41±2.05)에 비하여 상승되었고 PML과 PMH(26.52±1.97, 25.40±1.56)는 ETH에 비하여 저하는 되었으나 유의성있는 변화를 나타내지는 못했다. SOD는 metalloenzyme으로서 함유되어 있는 금속이온(Cu, Zn, Mn 및 Fe)의 종류에 따라 구분되며, O₂가 한 개의 전자를 받아들여 불완전 산화된 superoxide anion(O₂⁻)를 hydrogen peroxide(H₂O₂)로 전환시키는 O₂·소거 효소다(47). 본 실험에서 ETH의 SOD활성이 NOR에 비하여 현저히 상승된 것은 알코올투여로 증가된 oxygen free radical을 소거하려는 생리적 적응현상으로 생각되며 이 활성은 매실 에탄올추출물투여로 저하되었다. GSH-Px의 활성은 ETH(421.90±43.66)가 NOR(327.80±30.39)에 비하여 유의적으로 상승되었으며 PML과 PMH(375.10±60.91, 342.30±49.93)은 알코올투여로 상승된 GSH-Px활성을 정상군에 근접하게 저하시켰다. GSH-Px는 세포질과 사립체내에 존재하기에 사립체내에서 생성된 H₂O₂의 소거에 일차적으로 작용하고 Km 값이 낮기 때문에 H₂O₂의 농도가 낮을 때에도 작용한다. 또한 selenium(Se)을 함유하는 항산화계 효소로서 체내에서 NADP⁺를 전자수용체로하여 glutathione(GSH)를 산화형 glutathione(GSSG)과 물 그리고 기타 과산화물을 생성하는 반응을 촉매하므로써 조직의 과산화적 손상을 방지하고 산소독을 해독하는 효소이다(48). 이때 생성된 GSSG는 NADPH를 전자공여체로 glutathione reductase에 의하여 GSH로 환원되어 재이용된다. 이 때 사용된 NADPH는 주로 hexose monophosphate

Table 6. The activities of catalase, SOD, XO and GSH-Px on liver of rats administered alcohol and *Prunus mume* ethanol extract

Enzyme activities	6 weeks				
	NOR ¹⁾	PME	ALC	PML	PMH
Catalase ²⁾	4789.00±439.9 ³⁾	4188.00±271.3 ^{ab}	6874.00±509.6 ^b	4807.00±279.2 ^{ab}	4698.00±300.6 ^{ab}
SOD ³⁾	22.41±2.05 ⁴⁾	20.42±3.52 ^a	30.24±1.93 ^b	26.52±1.97 ^{ab}	25.40±1.56 ^{ab}
XO ⁵⁾	28.98±2.22	26.65±6.12	43.45±1.00	40.05±9.02	39.87±4.81
GSH-Px ³⁾	327.80±30.39 ^a	312.55±14.09 ^a	421.90±43.66 ^b	375.10±60.91 ^a	342.30±49.93 ^a

¹⁾ See the legend of Table 1.

²⁾ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein.

³⁾ Decreased H₂O₂ $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein.

⁴⁾ mU/g protein.

⁵⁾ Decreased NADPH $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein.

Values are mean±S.E. of 10 rats per each group.

⁶⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different ($p < 0.05$) between groups by Tukey(T) test.

pathway(HMP)에 의해서 공급되어진다(49). 본 연구에서 ETH가 NOR에 비하여 GSH-Px활성이 유의하게 상승된 것은 알코올에 의한 간세포독성유발로 증가된 H₂O₂를 소거하기 위하여 나타난 결과로 생각된다.

간 조직중 과산화지질함량

흰쥐에 알코올 및 매실 에탄올추출물 200 mg/kg 및 400 mg/kg을 6주간 투여 후 간 조직 중 과산화지질함량은 Table 7과 같다. 매실 에탄올추출물만을 투여한 PME(5.61±0.56)은 과산화지질함량이 NOR(6.09±0.24)에 비하여 오히려 낮았고 알코올을 투여한 ETH(9.71±0.42)는 NOR에 비하여 유의하게 증가되었다. 그러나 매실 에탄올추출물을 투여한 PML과 PMH(9.46±0.32, 9.04±0.44)는 알코올투여로 증가된 과산화지질함량을 ETH에 비하여 감소시키지는 못했다. 에탄올만을 투여한 군의 간 TBA 반응성산물량은 급성 혹은 만성적인 에탄올 투여가 지질과산화물함량을 증가시킨다는 보고처럼(50) 본 실험에서도 정상군에 비하여 높은 증가를 나타냈는데, 이 결과는 에탄올의 분해산물인 acetaldehyde가 cytosolic xanthine oxidase와 작용하여 부산물로 생성된 O₂의 양이 증가되어 세포막의 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물 생성이 증가된 것으로 여겨지고(51- 52), 또한 과량의 알코올섭취 후 생성된 acetaldehyde는 tubulin과 반응하고 polymerization 반응을 방해하여 세포내에서 단백질 이동을 억제하기 때문에 알코올에 의한 간손상시 간세포내에 이상 단백질이 축적되므로써 간세포가 손상 및 괴사를 초래하게 되는 것으로 보고되고 있다(53). 특히 acetaldehyde가 low Km상태의 acetaldehyde dehydrogenase에 의하여 산화작용을 일으키게 되면 유리 산소기가 함유된 더욱더 반응적인 물질이 생성됨으로서 지질과산화 작용을 촉진하게 된다(54-55). 지질과산화 반응은 여러 가지 독성화합물이나 약물에 의한 간 손상 발생의 가장 중요한 기전으로 이러한 기전은 세포내 산화적 스트레스의 증가, 즉 free radical 생성의 증가 및 항산화적 방어력의 감소에 기인한 것으로 보고되고 있다.

Table 7. The contents of thiobarbituric acid (TBA)-reactants on liver of rats administered alcohol and *Prunus mume* ethanol extract

Content	Groups	6 weeks				
		NOR ¹⁾	PME	ALC	PML	PMH
Thiobarbituric acid (TBA)-reactants		6.09±0.24 ^{a2)}	5.61±0.56 ^a	9.71±0.42 ^{bc}	9.46±0.32 ^c	9.04±0.44 ^{bd}

¹⁾ See the legend of Table 1.
 Values are mean ± S.E. of 10 rats per each group.
²⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05) between groups by Tukey(T) test.

간 조직 중 GSH함량

흰쥐에 알코올 및 매실 에탄올추출물 200 mg/kg 및 400 mg/kg을 6주간 투여 후 간 조직 중 GSH함량은 Table 8과 같다. GSH는 glutathione-S-transferase와 GSH-Px와 같은 외부의 산화적 세포 손상에 대한 방어작용을 나타내는 효소의 기질로 사용되며 세포내 지질과산화물과 이물질 제거, 아미노산 수송 및 저장 등 다양한 세포기능을 수행하는 중요한 물질이다(56). 본 실험에서 GSH함량이 PME가(54.21±1.89) NOR(50.34±2.10)에 비하여 증가를 나타내었고 ETH(30.54±1.85)는 NOR에 비하여 유의적으로 감소되었는데 이 결과는 GSH를 기질로 과산화수소를 제거하는 GSH-Px활성이 증가되어 GSH가 소모됨으로서 감소된 것으로 여겨지며, 알코올과 매실 에탄올추출물 병합투여군(PML, 47.56±2.56, PMH, 48.89±2.46)이 알코올만을 투여한 ETH에 비하여 GSH함량이 유의성있게 증가되었고 그 함량이 정상치에 근접하게 되었는데, 이 결과는 매실 에탄올추출물이 알코올에 의하여 생성된 H₂O₂ 등 free radical을 소거하여 GSH-Px의 소모가 줄어들음으로서 GSH의 소모량이 줄어들어 나타난 결과로 여겨진다. 알코올에 의한 간 조직중의 GSH함량의 감소기전에 대해서는 아직도 확실하게 밝혀져 있지는 않았으나 Videla 등(57)의 주장처럼 알코올에 의해 생성된 과산화지질이 GSH와 반응하여 산화됨으로서 GSH함량이 감소된 것으로 보여진다. 그러나 매실 에탄올추출물이 알코올투여로 감소된 GSH함량을 약 60%정도 증가시켜 정상치에 유사하게 되었으나 Table 7에서 매실 에탄올추출물과 알코올 병합투여군의 지질과산화물량이 알코올만을 투여한 군에 비해 별다른 변화를 나타내지 않았음은 알코올에 의한 간 조직중의 GSH함량의 감소기전에 대해서는 아직도 확실하게 밝혀져 있지는 않았으나 알코올에 의한 간 조직중의 GSH함량의 감소기전에 대해서는 아직도 확실하게 밝혀져 있지는 않았으나 여러 문헌과 본 실험의 결과인 Table 7과 8을 연결지어 보면 지질과산화물량과 GSH함량사이에는 역상관 관계가 있음을 알 수 있다.

Table 8. The contents of glutathione on liver of rats administered alcohol and/or *Prunus mume* ethanol extract

Content	Groups	6 weeks				
		NOR ¹⁾	PME	ETH	PML	PMH
Glutathione (mg/g liver)		50.34±2.10 ²⁾	54.21±1.89 ^a	30.54±1.85 ^b	47.56±2.56 ^a	48.89±2.46 ^a

¹⁾ See the legend of Table 1.
 Values are mean ± S.E. of 10 rats per each group.
²⁾ Values with different superscripts in the same row are significantly different (p<0.05) between groups by Tukey(T) test.

요 약

매실 에탄올추출물이 알코올투여로 유발된 흰쥐의 간손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험동물을 정상군, 매실 에탄올추출물 200 mg/kg투여군, 알코올투여군(35% ethanol 10 mL/kg, b.w./day), 알코올 및 매실 에탄올추출물 200 mg/kg 병합투여군과 알코올 및 매실 에탄올추출물 400 mg/kg 병합투여군의 5군으로 나누어 6주간 사육하였고, 체중증가를 및 식이효율, 혈청중 ALT와 AST활성, 간손상 억제 효과를 확인하기 위해 SOD, catalase, xanthine oxidase 및 GSH-Px활성을 측정하고, 지질과산화물인 thiobarbituric acid reactant(TBARS) 및 GSH함량에 미치는 영향을 측정하였다. 그 결과, 매실 에탄올추출물이 알코올투여로 증가된 유리기해독제 효소인 GSH-Px활성을 유의성있게 감소시키고 비효소적 항산화작용을 나타내는 GSH함량을 증가시킴으로서 지질과산화물에 대한 방어력이 증강됨을 보였고, 알코올 투여로 상승된 ALT 및 AST활성을 유의성있게 감소시켜 매실 에탄올추출물이 에탄올에 의한 지방간 또는 손상된 간세포를 회복시키는 작용이 있는 것으로 추정되었다.

참고문헌

- 이창복 (1979) 대한식물도감, 향문사, 서울, p.451
- 문관심 (1994) 약초의 성분과 이용, 일월서각, 서울, p.299
- Han, J.T., Lee, S.Y., Kim, K.N. and Baek, N.I. (2001) Rutin, antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mume*. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 44, 35-37
- 佐藤公一・森英男外三人 (1972) 日本果樹園藝大事典. 養賢堂, 東京, p.720-737
- 赤松金芳 (1997) 新訂和漢藥. 東京: 醫齒藥出版(株). p.396
- Lee, D.S., Woo, S.K. and Yang, C.B. (1972) Studies on the chemical composition of major fruits in Korea. Korean J. Food Sci. Technol., 4, 134-139
- Moon, J.S. (1994) Changes in physicochemical properties of korean plum(*Prunus mume*)during ripening. M.S. Thesis. Kyunghee Univ. Korea.
- Song, B.H., Choi, K.S. and Kim, Y.D. (1997) Changes of physicochemical and flavor components of Ume according to varieties and picking date. Korean J. Post-Harvest Sci. Technol. Agri. Products., 4, 77-85
- 권영주 · 김영희 · 곽재진 · 김근수 · 양광규 (1990) 살구와 매실의 휘발성 향기성분. 한국농화학회지, 33, 319-324
- 강민영 · 정윤화 · 은종방 (1999) 매실과육과 매실착즙박의 이화학적 특성. 한국식품과학회지, 31, 1434-1439
- 차환수 · 황진봉 · 박정선 · 박용곤 · 조재선 (1999) 매실의 성숙중 유기산, 유리당 및 유리아미노산의 변화. 농산물저장유통학회지, 6, 481-487
- 배지현 · 김기진 · 김성미 · 이원재 · 이선장 (2000) 매실 추출물을 함유한 기능성 음료개발. 한국식품과학회지, 32, 713-719
- Youn, M.S. (1989) Effects of Maesil extracts ingestion on blood lactate density and serum lipid components. M.S. Thesis. Kyungnam Univ. Korea,
- Sheo, H.J., Lee, M.Y. and Chung, D.L. (1990) Effects of *Prunus mume* extracts on the gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. Korean J. Food Sci. Nutr., 19, 21-26
- Sheo, H.J., Ko, E.Y. and Lee, M.Y. (1987) Effects of *Prunus mume* extracts on experimentally alloxan induced diabetes in rabbit. Korean J. Food Sci. Nutr., 16, 41-47
- Bae, J.H. and Kim, G.J. (1999) Effects of *Prunus mume* extract containing beverage on the proliferation of food-borne pathogens. J. East Asian Diet. Life., 9, 214-222
- Shim, K.H., Sung, N.K., Choi, J.S. and Kang, K.S. (1989) Changes in major components of Japanese apricot during ripening. J. Korean Soc. Food Nutr., 18, 101-108
- Shim, J.H., Park, M.W., Kim, M.R., Lim, K.T. and Park, S.T. (2002) Screening of antioxidant in frutus mume(*Prunus mume* Sieb. et Zucc.) extract. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol., 45, 119-123
- 우원식(1997) 천연물 화학 연구. 서울, 서울대학교 출판부. p.14-15
- Fujji, M., Ohmachi, T., Sagami, I., and Watanabe, M. (1985) Liver microsomal drug metabolism in ethanol treated hamsters. Biochem. Pharmacol., 34, 3881-3885
- Downey, J.M., Miura, Y., Eddy, L.I., Chambers, D.E., Mellert, T., Hearse, D.J. and Yellon, D.M. (1987) Xanthine oxidase is not a source of free radicals in the ischemic rabbit heart. J. Mol. Cell Cardiol., 19, 1053-1060
- Crapo, C.H., McCord, J.M. and Fridovich, I. (1978) Preparation and assay of superoxide dismutase. Methods enzymol. ed. Fleischer S and Packer L., Academic press, New York, p.382-393
- Aebi, H. (1974) Catalase, methods of enzymatic analysis. Bergmeyer HU, Bergmeyer, J and Grabi, M., eds. 3rd ed., Verlag. chemie., p.673-689
- Flohe, L., Wolfgng, A. and Gunzler, W.A. (1984) Assay of glutathine peroxidase. In Methods in enzymatic analysis. Packer. L. eds. Academic Press, Inc., New York, p.673-684
- Buege, J.A. and Aust, S.D. (1969) Microsomal lipid peroxidation. In *Methods in enzymology*. Packer, L. ed.,

- Academic Press, New York, p.502-520
26. Tietze, F. (1969) Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal. Biochem.*, 27, 502-522
 27. Reitman, S. and 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
 28. Lowry, C.H., Rsenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275
 29. Shaw, S. and Lieber, C.S. (1983) Nutrition and alcohol, A clinical perspective, Weininger J. Briggs GM, eds. Nutrition Update John Wiley & Sons, New York, p.79-104
 30. Halsted, C.H. (1980) Alcoholism and malnutrition introduction to the symposium. *Am. J. Clin. Nutr.*, 33, 2705-2708
 31. Mitchell, M.C. and Herlong, H.F. (1986) Alcohol and nutritional: caloric value, bioenergetics, and relationship to liver damage. *Ann. Rev. Nutr.*, 6, 457-164
 32. Koo, B.K., Chung, J.M., Lee, H.S. (1998) Biochemical evaluation of nutritional status of protein and lipid in patients with alcoholic liver disease. *Korean J. Food Sci. Nutr.*, 27, 1236-1243
 33. Zimmerman, H.J. (1981) Chemical hepatic injury and its detection, in toxicology of the liver. Plaa, G.L. and Hewitt, W.R., eds., Raven press, p.1-10
 34. Goldberg, B. and Stern, A. (1977) The role of the superoxide anion as a toxic species in the erythrocyte. *Arch. Biochem. Biophys.*, 178, 218-225
 35. 윤종국, 전태원, 오만진, 이규희 (2000) 흰쥐에 있어서 구기자 알콜 추출물이 Oxygen free radical 및 alcohol 대사 효소 활성에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, 29, 268-273
 36. Chow, C.K. and Tappel. A.L. (1974) Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutr.*, 104, 444-451
 37. Leibovitz. B.E. and Siegel. B.V. (1980) Aspects of free radical reaction in biological system. *Aging. J. Gerontol.*, 35, 45-56
 38. Park, J.A., Kim, M.K. (1999) Effect of korean native plant diet on lipid metabolism, antioxidative capacity and cadmium detoxification in rats. *The Korean Nutr. Soc.*, 32, 353-368
 39. Harris E.D. (1992) Regulation of antioxidant enzymes. *J. Nutr.*, 122, 625-626
 40. Yagi, K. (1987) Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipid*, 45, 337-354
 41. Storch, J. and Ferber, E. (1988) Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.*, 169, 262-275
 42. Oei. H.H., Stroo. W.E., Burton. K.P. and Schaffer. S.W. (1982) A possible role of xanthine oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res. Commun Chem. Pathol. Pharmacol.*, 38, 454-461
 43. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.*, 59, 527-605
 44. Frank, L. and Massaro, D. (1980) Oxygen toxicity. *Am. J. Med.*, 69, 117-126
 45. Dolphin, D., Forman, A., Berg, D.C., Fajce, J. and Felton, R.H. (1971) Compounds of catalase and horeradish peroxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 68, 614-623
 46. Tubaro, E., Banci, F., Looti. B. and Gorce, C. (1976) Xanthine oxidase activation in animal liver during infectious processes. *Arzneimittel-Forschung.*, 26, 2185-2198
 47. McCord, J.M. and Fridovich, I. (1969) Superoxide dismutase an enzymatic function for erythrocyte(hemocuprin). *J. Biol. Chem.*, 244, 6049-6061
 48. Fred, J., Yost, J. and Fridovich, I. (1976) Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage. *Arch. Biochem. Biophys.*, 175, 514-525
 49. Recknagel, R.O., Glende, E.A. and Hruszkewycz, A.M. (1977) Chemical mechanisms in carbon tetrachloride toxicity in "Free radicals in biology" Pryor, W. A. ed., Academic Press, New York, p.295-314
 50. Plaa, G.L. and Witschi, H. (1976) Chemical drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol.*, 16, 125-141
 51. Suematsu, T., Matsumura, T., Sato, N., Miyamoto, T., Ooka, T. and Abec. H. (1981) Lipid peroxidation in alcoholic liver disease in humans. *Alcohol, Clin. Exp. Res.*, 5, 427-439
 52. Schilling, R.Z. and Reitz, R.C. (1980) A mechanism for ethanol-induced damage to liver mitochondrial structure and function. *Biochimica Biophysica Acta.*, 603, 266-285
 53. Saunders JB, Williams R. (1983) The genetics of alcoholism. *Alcohol*. 18, 189-211
 54. Sevanian, A. and Hochstein, P. (1985) Mechanism and consequences of lipid peroxidation in biological system. *Ann. Rev. Nutr.*, 365-373
 55. Reed, D.J. and Fariss, M.W. (1984) Glutathione depletion and susceotibility. *Pharmacol Rev.*, 36, 25-28
 56. Lieber, C.S. (1980) Interaction of ethanol with drug,

hepatotoxic agent, carcinogen and vitamins. *Alcoholism.*, 25, 157-171

57. Videla, L.A., Fernandez, V., Valenzuela, A. and Ugarte, G. (1980) The effect of chronic alcohol on glutathione

concentration in isolated hepatocytes. *Biochem. J.*, 188, 549-562

(접수 2004년 1월 19일, 채택 2004년 2월 26일)