

## 구기자 추출물과 생과즙의 간독성 보호효과

강경일\* · 정진영 · 고경희<sup>1</sup> · 이철호

고려대학교 생명과학대학 식품공학과, <sup>1</sup>가톨릭대학교 식품영양학과

## Hepatoprotective Effects of *Lycium chinense* Mill Fruit Extracts and Fresh Fruit Juice

Kyungil Kang\*, Jinyoung Jung, Kyung-Hee Koh<sup>1</sup>, and Cheri-Ho Lee

Department of Food Engineering, Graduate School of Life Science and Biotechnology, Korea University

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, The Catholic University of Korea

**Abstract** Hepatoprotective effects of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts on CCl<sub>4</sub>-administered rats were investigated *in vivo*. Administration of CCl<sub>4</sub> increased plasma glutamic oxalacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (GPT), and lactate dehydrogenase (LDH) activities, induced lipid peroxidation as measured by malondialdehyde (MDA) content of rat liver, and significantly increased liver weight. Feeding of *B. Kugi* (*Lycium chinense* Mill) slightly increased body weight gain, although not significantly different from normal group. *B. Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts reduced blood cholesterol level and inhibited CCl<sub>4</sub>-induced increases of plasma GPT, GOT, and LDH activities, whereas increased contents of MDA and cytochrome P-450, and GST activity in liver tissue of CCl<sub>4</sub>-administered rats. Roasted *B. Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extract showed highest hepatoprotective effect among samples tested. These results suggest water extracts of *B. Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit possess promising hepatoprotective activity against CCl<sub>4</sub>-induced hepatic damage in rats.

**Key words:** hepatoprotective effect, *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill), GPT, GOT, LDH, MDA, cytochrome P-450

### 서 론

구기자 나무(*Lycium chinensis* Mill.)는 가지과(Solanaceae)에 속하는 낙엽송 소관목으로 아시아 지방이 원산지이며, 우리나라의 충남 청양군과 전남 진도군을 비롯한 중국, 대만, 일본, 유럽 등지에 자생하거나 재배되고 있다. 생약제로 열매인 구기자는 세포복제, methionine 대사, 해독반응에 중요한 역할을 담당하는 betaine과 β-carotene, cholesterol, glycine, linoleic acid, nicotinic acid, physalene(= Zeaxanthin dipalmitate), vitamin B<sub>1</sub>, vitamin B<sub>2</sub> 등이 함유되어 있으며, 잎인 구기엽에는 cytidylic acid B, hypoxanthine, inosine, pyroglutamic acid 등이 함유되어 있다. 뿌리인 지골피에는 항균성을 지닌 cinnamic acid와 kukoamine A, linoleic acid, linolenic acid 등이 존재한다(1-4). 구기자는 몸이 허약하여 생긴 병을 다스리고 근골을 단단하게 하며 눈에 좋다고 하였고 일명 지선(地仙), 선인장(仙人杖)이라 하고, 봄과 여름에 구기엽을 채취하고 가을에 열매와 구기줄기를 채취하여 오래 복용하면 신체를 건강하게 한다고 기록되어 있다(5).

구기자의 관한 연구로는 죽상경화증(atherosclerosis)의 유발물질인 homocysteine의 혈중 내 함량을 감소(6), 혈중 지질 저하 효과(7), 유해산소 및 알코올의 해독효과(8), 간 보호효과 및 고지혈증

병태모델 혈청지질의 상승억제효과(9), 그리고 혈당 강화작용(10)에 대해 보고되었다.

본 연구는 1995년 교잡육종법으로 계통 육성하여 재래종과 비교 시 내병충성, 대과이며 다수성으로 2002년 신품종으로 선발된 씨적은 불로 구기자(11) 약효의 이용 가능성을 알아보기 위하여 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>)에 의해 급성 간 독성이 유발된 흰쥐의 간 기능 보호효과에 관한 연구를 하였다.

### 재료 및 방법

#### 구기자 추출물의 제조

충남 청양 구기자 시험장에서 재배육종된 씨적은 불로품종 건과 구기자와 생과 구기자를 구입하여 건조구기자 추출물(DFE: dried fruit extract), 볶은 구기자 추출물(RFE: roasted fruit extract), 그리고 생과즙(FFJ: fresh fruit juice)을 제조하였다. 건조구기자 추출물(DFE)의 제조는 건과 구기자 1kg을 물과 1:9 비율로 혼합하여 50°C에서 2시간 동안 추출하였고 여과 후 병입하였다. 병입물을 90°C에서 15분간 살균 및 급랭시켜 동결건조 전까지 -70°C 냉동보관 하였다. 볶은 구기자 추출물(RFE)의 경우, 건과 구기자를 80°C에서 5분간 볶은 것을 제외하고는 건조구기자 추출물과 같은 과정으로 제조 및 보관하였다. 생과즙(FFJ)은 생과 구기자 1kg을 정선 및 수세한 후 90°C에서 40초 동안 데치기 하여 착즙 하였으며 착즙액을 85°C에서 5분 동안 가열하고 여과 후 병입하였다. 이 후의 과정은 건조구기자 추출물(DFE)과 같은 방법으로 제조 및 보관하였다. 시료로 사용하기 위해 DFE, RFE, FFJ를 rotary evaporator(Heidolph, Germany)를 이용하여 50°C 이하에서 농축한 후 농축액을 freeze dryer(Samwon, Korea)를 이용하여 완전 건조한 후 사용하였다.

\*Corresponding author: Cheri-Ho Lee, School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, 1, 5 ka, Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul 136-701, Korea

Tel: 82-2-3290-3414

Fax: 82-2-923-5201

E-mail: chlee@korea.ac.kr

Received July 15, 2005; accepted November 30, 2005

**Table 1. The design of experimental groups**

Group	Dose (g/kg b.w.)	Treatment
NOR <sup>1)</sup>	-	0.9% saline
CON <sup>2)</sup>	-	0.9% saline + Carbon tetrachloride
DFEC <sup>3)</sup>	2	0.9% saline + DFE + Carbon tetrachloride
RFEC <sup>4)</sup>	2	0.9% saline + RFE + Carbon tetrachloride
FFJC <sup>5)</sup>	2	0.9% saline + FFJ + Carbon tetrachloride

<sup>1)</sup>NOR: Normal group.

<sup>2)</sup>CON: This group was treated with CCl<sub>4</sub> after a week of feeding with 0.9% saline.

<sup>3)</sup>DFEC: This group was treated with CCl<sub>4</sub> after a week of feeding with 0.9% saline containing dried fruit extract of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

<sup>4)</sup>RFEC: This group was treated with CCl<sub>4</sub> after a week of feeding with 0.9% saline containing roasted fruit extract of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

<sup>5)</sup>FFJC: This group was treated with CCl<sub>4</sub> after a week of feeding with 0.9% saline containing fresh fruit juice of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

### 환원당 및 단백질 함량 측정

환원당의 함량은 DNS법에 따라 환원당을 DNS(3,5-dinitrosalicylic acid, Acros, USA)와 Rochelle salt(Wako, Japan)로 발색하여 640 nm에서 측정하여 mg glucose/g solid로 표시하였다. 단백질의 함량은 Bradford법(12)에 기초하여 595 nm에서 측정하였고 함량 단위는 mg protein/g solid로 표시하였다.

### 베타인 함량 측정

베타인(betaine, Sigma, USA) 함량분석은 식품첨가물 공전법(13)에 의해 측정하였고, 함량 단위는 mg betaine/g solid로 표시하였다.

### 동물의 식이 및 사육

생후 6주된 SD(Sprague-Dawley, 150-200 g)중 웅성 흰쥐를 대 한바이오링크(주)에서 구입하여 한 실험군에 6마리씩 배정하였다. 사육실의 온도와 습도는 각각 22 ± 0.5°C와 55 ± 5%로 조절하였고, 사육식은 고형사료를 물과 함께 자유로이 섭취케 하였다. 실험군은 Table 1과 같이 일반군(NOR), 대조군(CON), 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC), 생과즙 투여군(FFJC)으로 구성하였고 각각의 구기자 추출물과 생과즙을 0.9% saline 용액에 녹여 1일 1회씩 6일간 2 g/kg b.w.로 경구투여 하였다. 일반군(NOR)과 대조군(CON)의 경우 0.9% saline 만을 같은 방법으로 투여하였다. 6 일째, 구기자 추출물과 생과즙 투여 2시간 경과 후 일반군(NOR)을 제외한 모든 실험군에 CCl<sub>4</sub>(in olive oil, 1:1, w/w) 1 mL/kg b.w.로 복강 내 투여하여 급성 간 독성을 유발시켰다. 일반군(NOR)은 동량의 olive oil (Sigma, USA)만을 주사하였다.

### 혈액 및 간장의 채취

하루에 한번 채증을 측정하였고 CCl<sub>4</sub>(Merk, Germany) 투여 24 시간 경과 후 절식한 흰쥐를 diethyl ether로 마취하여 복부를 절개하고 심장에서 직접 채혈 및 간을 적출하였다. 생화학적 분석에 필요한 혈청은 심장으로 부터 혈액 5-6 mL를 직접 채혈하여 4°C, 3,000 rpm에서 20 분간 원심분리하여 혈청만을 분리하여 -70°C에 냉동 보관하였다. 혈액 채취 후 간에 묻어있는 혈액을 ice-cold 0.9% saline으로 씻고 간 조직 1g에 ice-cold 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 9 mL를 넣어 4°C, 11,000 rpm에서 1분 동안 균질화하여 10%(w/v) liver homogenate를 제조하였다. 간 조

직의 화학성분 및 효소활성 측정을 위해 600×g에서 원심분리 한 후 상층액을 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리 하여 상층액만을 분석용 시료로 사용하였다.

### 생화학적 분석

**혈청의 성분 및 효소활성:** 총 콜레스테롤(total cholesterol) 함량은 V-Cholesterol assay kit (아산제약, 한국)를 사용하여 측정하였다. 중성지방 함량은 효소법에 의한 Cleantech TG-S assay kit(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였다. 총 콜레스테롤과 중성지방의 함량 단위는 mg/dL serum으로 표시하였다. 또한 GOT(glutamic oxalacetic transaminase) 및 GPT(glutamic pyruvic transaminase)의 활성도 측정은 Reitman-Frankel법(14)에 의한 assay kits(아산제약, 한국)를 이용하여 측정하였고 활성도 단위는 IU/L serum로 표시하였다. LDH(Lactate dehydrogenase) 활성은 Wroblewski와 LaDuc의 방법(15)을 바탕으로 한 LDH assay kit(Sigma Diagnostics, USA)를 이용하여 측정하였고 U/mL serum으로 표시하였다.

**간 조직의 성분 및 효소활성:** 간 조직의 단백질 함량 측정은 Lowry 등의 방법(16)으로 측정하였고 TBARS(TBA-reactive substances)는 Ohkawa 등의 방법(17)을 이용하여 측정하였으며 형성된 Malondialdehyde(MDA) 양은 분자 흡광계수(1.56 × 10<sup>5</sup> M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)를 이용하여 nmole MDA/mg protein으로 표시하였다. Glutathione-S-transferase(GST) 활성도 측정은 Habig 등의 방법(18)에 따라 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB, Kanto, JAPAN)과 환원형 glutathione(GSH, Sigma, USA)을 기질로 사용하여 측정하였다. GST 활성도는 CDNB의 분자흡광계수(9.6 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)를 이용하여 nmole/mg protein/min으로 표시하였다. Cytochrome P-450 활성도 측정은 Omura와 Sato의 방법(19)으로 하였고 nmole/mg protein로 나타내었다.

### 통계처리

본 연구의 실험 결과는 실험군 당 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, Student's *t*-test를 통하여 유의성을 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 시료의 성분 함량

구기자의 상태 및 제조방법에 따른 수율, 가용성 고형분, 단백질, 환원당, 그리고 베타인 함량은 Table 2와 같다. 시료의 베타인 함량은 생과즙(FFJ)이 가장 많았으며 그 뒤로 건조구기자 추출물(DFE), 볶은구기자 추출물(RFE)로 나타났다. Betaine은 중성의 수용액에서 양쪽성을 가지는 4급 아민의 저분자 물질로 식이로부터 직접 또는 체내 choline의 비가역적인 산화과정을 통하여 공급된다. 초기에 생체의 waste product로 알려졌으나 현재까지 구조적으로 S-adenosylmethionine(SAME)과 생리 기능적으로는 choline, folic acid, vitamin B<sub>12</sub>와 매우 유사하여 다양한 생리학적, 생화학적 및 약리학적인 역할이 보고되고 있다(20,21). "Methyl donor"의 성질을 지닌 betaine은 methionine 대사, 세포 복제, 그리고 해독 반응에 매우 중요한 역할을 담당하며(22), 또한 동물실험에 있어 betaine을 섭취시켰을 때 화학적인 간 조직의 손상 억제(23)와 고지방식으로 인한 지방간 형성의 억제가 보고되었다(24).

### 체중증가량과 간 무게

구기자 추출물과 생과즙을 6일 동안 경구투여한 흰쥐의 체중증가량과 간 무게는 Table 3에 나타내었다. 체중증가량은 대조군

**Table 2. Yield and compositions of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts**

Treatment	Yield (% dry basis)	Contents (mg/g solid)			
		Soluble solid	Protein	Reducing sugar	Betaine
DFE <sup>1)</sup>	24	303	1.18 ± 0.05	223.90 ± 52.85	1.00 ± 0.17
RFE <sup>2)</sup>	20	259	1.10 ± 0.02	199.83 ± 44.51	1.16 ± 0.18
FFJ <sup>3)</sup>	35	345	2.43 ± 0.08	257.37 ± 31.87	2.04 ± 0.32

<sup>1)</sup>DFE: Dried fruit extract of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

<sup>2)</sup>RFE: Roasted fruit extract of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

<sup>3)</sup>FFJ: Fresh fruit juice of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill).

**Table 3. Effect of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts on body weight gain and liver weight in rats**

Groups <sup>1)</sup>	Body weight gain (g/rat)	Liver weight (g/100 g body weight)
NOR	17.9 ± 5.0 <sup>2)</sup>	2.9 ± 0.19
CON	23.5 ± 4.6	3.9 ± 0.11
DFEC	16.8 ± 2.6	3.6 ± 0.19**
RFEC	19.5 ± 5.7	3.6 ± 0.17**
FFJC	19.1 ± 4.0	3.5 ± 0.24**

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

<sup>2)</sup>Each value represents the mean ± SD of 6 rats.

\*\*Significantly different from the CCl<sub>4</sub>-induced group ( $p < 0.01$ ).

(CON), 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC) 모두 일반군(NOR)과 차이를 나타냈지만 군간의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 한편, 체중 100 g 당 간 무게에 있어 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC), 생과즙 투여군(FFJC) 모두 대조군(CON) 보다 유의적으로 감소하였다( $p < 0.01$ ). CCl<sub>4</sub> 투여 시 간 세포 내 apolipoprotein-L(APO-L)과 triglyceride의 결합이 저해되어 VLDL의 생성을 억제시킴으로써 지방간 형성과 대사과정 중 생성되는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 이에 따라 증가된 ROS 독성에 의하여 간세포의 증식능이 유도됨으로써 간 무게가 증가된 것으로 생각된다. 반면 구기자 추출물 섭취 시 간 조직의 세포막 보호와 정상적인 지질 대사로 지방간 형성을 억제시킴으로써 대조군(CON) 보다 적은 간 무게를 나타낸 것으로 생각된다.

#### 혈청의 성분 및 효소활성

구기자 추출물과 생과즙 투여로 인한 혈청 내 GPT 및 GOT 활성에 미치는 영향은 Table 4와 같다. 혈청 내 GPT 활성은 대조군(CON)의 299.5 IU/L serum에 비해 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC)은 202.8 IU/L serum, 생과즙 투여군(FFJC)은 244.3 IU/L serum으로 GPT 활성이 감소하였다( $p < 0.05$ ). 반면 건조구기자 추출물 투여군(DFEC)은 289.0 IU/L serum으로 유의적인 차이는

**Table 4. Effects of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts on the activities of serum enzymes in rats**

Groups <sup>1)</sup>	GPT (IU/L serum)	GOT (IU/L serum)	LDH (U/mL serum)
NOR	23.91 ± 7.04 <sup>2)</sup>	59.30 ± 3.97	141.36 ± 42.82
CON	299.55 ± 54.97	410.40 ± 69.88	652.86 ± 70.03
DFEC	289.05 ± 90.60	366.62 ± 41.02	602.18 ± 61.86
RFEC	202.80 ± 81.34*	336.00 ± 56.68	561.10 ± 18.98*
FFJC	244.30 ± 56.61*	348.92 ± 40.30	558.00 ± 42.11*

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

<sup>2)</sup>Each value represents the mean ± SD of 6 rats.

\*Significantly different from the CCl<sub>4</sub>-induced group ( $p < 0.05$ ).

나타나지 않았다. GOT 활성의 경우, 대조군(CON)의 410.4 IU/L serum에 비해 건조구기자 추출물 투여군(DFEC)은 366.6 IU/L serum, 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC)은 336.0 IU/L serum, 그리고 생과즙 투여군(FFJC)은 348.9 IU/L serum으로 GOT 활성이 감소하였으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 대조군(CON)의 경우, CCl<sub>4</sub>가 간세포의 괴사를 일으켜 혈중 내로 GOT와 GPT가 유리되어 그 활성이 증가된다는 보고들과 일치한다(25-27). 한편, 볶은 구기자 추출물(RFE)과 생과즙(FFE)의 섭취 시 혈청 내 GOT와 GPT 활성이 감소되는 것으로 보아 간세포 괴사를 억제시키는 것으로 생각된다.

구기자 추출물과 생과즙 투여에 의한 혈청 내 LDH(lactate dehydrogenase) 활성에 미치는 영향은 Table 4에 나타내었다. 대조군(CON)의 652.9 U/mL serum에 비해 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC)과 생과즙 투여군(FFJC)에서 각각 561.1 U/mL serum, 558.0 U/mL serum으로 LDH 활성이 유의적으로 감소하였다( $p < 0.05$ ). 반면 건조구기자 추출물 투여군(DFEC)은 602.2 U/mL serum으로 감소 되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

혈중 총 콜레스테롤 함량은 Table 5와 같이 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC), 그리고 생과즙 투여군(FFJC) 모두 대조군(CON)과 비교하여 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 중성지방 함량은 대조군(CON)의 32.3 mg/dL serum에 비해 건조구기자 추출물 투여군(DFEC)은 38.9 mg/dL serum, 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEC)은 37.9 mg/dL serum, 그리고 생과즙 투여군(FFJC)은 39.2 mg/dL serum으로 중성지방 함량이 유의적으로 증가하였다( $p < 0.05$ ). CCl<sub>4</sub> 투여 시 생성된 free radical에 의한 간 조직의 세포막 손상으로 간 조직 내 지질이 다량 축적되어 혈중 내 중성지방 함량이 감소되었으나 구기자 추출물과 생과즙 섭취 시 간 조직의 정상적인 지질대사로 혈중 내 중성지방 함량이 증가한 것으로 생각된다.

#### 간 조직의 성분 및 효소활성

간 조직 내 과산화지질 함량을 Table 6에 나타내었다. 볶은 구기자 추출물 투여군(RFEJ)과 생과즙 투여군(FFJC)의 MDA 함량은 대조군(CON)과 비교하여 유의적으로 감소하였다. 반면 건조

**Table 5. Effects of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts on the serum lipid profiles in rats (unit: mg/dL serum)**

Groups <sup>1)</sup>	Triglyceride	Total cholesterol
NOR	43.97 ± 10.10	95.03 ± 7.69 <sup>2)</sup>
CON	32.31 ± 6.02	69.20 ± 11.51
DFEC	38.92 ± 7.41*	68.53 ± 7.62
RFEC	37.95 ± 4.79*	69.20 ± 10.19
FFJC	39.23 ± 7.36*	72.03 ± 6.10

<sup>1)</sup>Groups are the same as Table 1.<sup>2)</sup>Each value represents the mean ± SD of 6 rats.\*Significantly different from the CCl<sub>4</sub>-induced group ( $p < 0.05$ ).

구기자 추출물 투여군(DFEC)의 MDA 함량은 5.43 nmoles/mg protein으로 감소되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다. MDA는 지질 과산화 과정의 중간 산물이고, 세포손상 기작의 하나로 생각되고 있다(28,29). CCl<sub>4</sub> 투여 시 간 세포 내 CCl<sub>4</sub> 대사 생성된 CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>OO·에 의해서 또는 세포막 구성물질인 다가불포화 지방산의 과산화에 의해서 MDA 함량이 증가하며(30,31), 또한 SER(smooth endoplasmic reticulum)과 미토콘드리아 등에도 손상을 입혀 과산화를 발생시키는 것으로 보고되었다(32,33). 본 실험에서도 대조군(CON)의 경우, MDA 함량이 증가되었으나 붉은 구기자 추출물 투여군(RFEC)과 생과즙 투여군(FFEC)의 섭취 시 MDA 함량이 감소되는 것으로 보아 지질과산화에 의한 간 세포의 손상을 억제시키는 것으로 생각된다.

구기자 추출물과 생과즙 투여가 간 조직 내 GST 활성에 미치는 영향을 측정하였고 그 결과는 Table 6과 같다. 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 붉은 구기자 추출물 투여군(RFEC), 그리고 생과즙 투여군(FFJC) 모두 대조군(CON)에 비하여 GST 활성이 증가되었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

GST는 여러 내인성 물질과 외인성 약물 및 발암원의 1단계 약물대사를 거치면서 생성된 친전자성 물질들을 glutathione과 conjugate 시켜 최종적으로 독성이 적고 극성이 큰 mercapturic acid로 전환되게 함으로써 불활성화 및 water-soluble을 증가시켜 독성물질 (toxicant)을 체외로 배출하는데 관여하는 매우 중요한 약물대사 효소로 알려져 있다(34,35). 본 실험에서는 CCl<sub>4</sub> 투여 시 GST 활성의 감소(36-38)가 보고된 것과 마찬가지로 CCl<sub>4</sub> 투여로 인해 GST 활성이 감소한 반면 구기자 추출물과 생과즙 섭취 시 GST 활성이 약간 증가함을 나타냈는데 이러한 결과는 독성물질인 free radical을 glutathione과 conjugate 시킴으로써 포함물의 체외배출을 가능케 하여 간 조직의 손상을 감소시키는 것으로 생각된다.

### Cytochrome P-450 활성도

구기자 추출물과 생과즙 투여가 간 조직 내 cytochrome P-450 활성도에 미치는 영향을 측정하였고 그 결과는 Table 6과 같다. 사염

화탄소(CCl<sub>4</sub>) 단독 투여군인 대조군(CON, 0.394 nmoles/mg protein)은 일반군(NOR, 0.499 nmoles/mg protein)에 비해 감소가 확인되었다. 건조구기자 추출물 투여군(DFEC), 붉은 구기자 추출물 투여군(RFEC), 그리고 생과즙 투여군(FFJC)은 대조군(CON)보다 각각 0.432 nmoles/mg protein, 0.439 nmoles/mg protein, 0.443 nmoles/mg protein 으로 증가하였지만 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

간장에 주로 존재하는 cytochrome P-450은 전자전달계를 구성하여 외부이물질(xenobiotics)들을 수산화(hydroxylation)시켜 체외로 배설시키는데 중요한 역할을 담당하는 헵타백질로서 많은 isozyme들로 구성되어 있다(39).

Cytochrome P-450은 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>)를 반응성이 높은 독성 free radical인 CCl<sub>3</sub>·로 전환시켜(40) 세포막의 인지질 과산화 및 내형질세망의 구조와 기능 파괴, 미토콘드리아의 파괴 등 다양한 세포 상해를 일으켜 세포의 괴사나 지방변성을 초래하기도 하며(41,42) CCl<sub>4</sub> 투여 시 세포 내 cytochrome P-450 활성의 감소가 보고되었다(43,44). 본 연구에서는 구기자 추출물과 생과즙 섭취 시 대조군(CON)에 비해 cytochrome P-450의 활성이 모두 회복되었는데 이는 구기자 추출물과 생과즙이 free radical로 전환된 CCl<sub>3</sub>·, CCl<sub>3</sub>OO·을 제거하여 간세포 독성을 저해시킨 것으로 생각된다.

## 요 약

국내에서 선별 육종된 불로 구기자의 처리방법에 따른 간기능 보호효과를 측정하기 위하여 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>) 투여로 급성 간독성을 유발시킨 흰쥐를 대상으로 연구하였다. 건조구기자 추출물(DFE), 붉은 구기자 추출물 (RFE), 그리고 생과즙(FFE)을 경구 투여한 결과 군간의 체중증가량은 차이를 나타내지 않았다. 한편, 체중 100 g 당 간 무게는 처리조건에 관계없이 구기자 추출물 및 생과즙 투여군이 유의적으로 낮은 간 무게를 나타내었다( $p < 0.01$ ). 이것은 구기자 추출물과 생과즙 섭취가 CCl<sub>4</sub> 투여에 의한 지방간 형성 또는 간 독성에 의한 간 무게증가를 다소 완화하여준 효과를 나타내는 것으로 판단된다. 사염화탄소(CCl<sub>4</sub>) 투여에 의하여 흰쥐의 혈청 GPT 및 GOT 활성과 LDH 활성은 유의적으로 증가하였으나 붉은 구기자 추출물 투여군(RFEC)과 생과즙 투여군(FFJC) 모두 GPT, GOT 활성이 유의적으로 감소되었다. 혈중 총 콜레스테롤 함량은 구기자 추출물과 생과즙 투여군 모두 대조군(CON)과 비교하여 유의적인 증가를 나타내지 않았고 중성 지방함량은 대조군에 비해 유의적인 증가를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 간 조직의 MDA 함량과 GST, cytochrome P-450 활성 결과로 보아 구기자 추출물과 생과즙을 섭취 시 사염화탄소에 의한 독성을 완화시키는 것으로 나타났다. 따라서 이러한 모든 결과를 종합해 볼 때, 구기자 추출물과 생과즙은 CCl<sub>4</sub> 투여로 인한 지질 과산화, 지방변성, 간 세포 괴사 등을 억제 시키는 간 독성 보호 효과가 있는 것으로 생각된다.

**Table 6. Effects of *Bulro Kugi* (*Lycium chinense* Mill) fruit extracts on the MDA and C-P450, and GST activity in the liver tissues of rats**

Groups <sup>1)</sup>	MDA (nmoles/mg protein)	GST (nmoles/mg protein/min)	C-P450 (nmoles/mg protein)
NOR	2.94 ± 0.34 <sup>2)</sup>	931.06 ± 188.35	0.499 ± 0.06
CON	6.03 ± 0.55	644.60 ± 146.58	0.394 ± 0.09
DFEC	5.43 ± 0.80	721.01 ± 113.85	0.432 ± 0.07
RFEC	3.67 ± 0.67***	799.25 ± 172.44	0.439 ± 0.07
FFJC	3.78 ± 1.11**	780.38 ± 172.48	0.443 ± 0.07

<sup>1)</sup>Groups are the same as Table 1.<sup>2)</sup>Each value represents the mean ± SD of 6 rats.\*\*, \*\*\*Significantly different from the CCl<sub>4</sub>-induced group ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.1$  respectively).

## 감사의 글

이 연구는 농림부 농림기술개발과제(2002-2005)으로 수행된 연구결과의 일부이며, 연구에 도움을 주신 농림부와 충남 청양 구기자 시험장에 감사 드립니다.

## 문헌

- Lee BY, Kim EJ, Choi HD, Kim YS, Kim IH, Kim SS. Physico-chemical properties of Boxthorn (*Lycii fructus*) hot water extracts by roasting conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 27: 768-772 (1995)
- Jian Y. Modern Study of Chinese Drugs: Clinical Applications. Ancient Book Press of Chinese Medicine, China (1997)
- Jiangsu. Chinese Medicine Dictionary. Shanghai Science and Technology Press Shanghai, China (1979)
- Yubin J. Pharmacological Action: Application of available composition of traditional chinese medicine. Heilongjiang Science and Technology Press, Heilongjiang (1995)
- Heo J. Donggibokam. Namsadang, Seoul, Korea. pp. 738 (1998)
- Finkelstein JD, Kyle WE, Harris BJ. Methionine metabolism in mammals. Regulation of homocysteine methyltransferases in rat tissue. Arch. Biochem. Biophys. 146: 84-92 (1971)
- Kim HS, Park YS, Kim CI. Changes of serum lipid profiles after eating *Lycii Fructus* in rats fed high fat diet. Korean Nutr. Soc. 31: 263-270 (1998)
- Yoon CK, Kim HH, Chae SN, Oh MJ, Lee GH. Hepatic oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats fed diets supplemented with *Lycium chinense* ethanol extract. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 668-672 (2001)
- Kim NJ, Youn HG, Hong ND. Pharmacological effects of *Lycium chinensis*. Korean Soc. Pharmacog. 25: 264-271 (1994)
- Kim KS, Shim SH, Jeong KH, Cheong CS, Ko KH, Park JI, Huh H, Lee BJ, Kim BK. Anti-diabetic activity of constituent of *Lycii Fructus*. J. App. Pharmacol. 6: 378-383 (1998)
- Cheongyang Boxthorn Experiment Station. Boxthorn. Chungnam, Korea, pp. 35-44 (1998)
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the determination of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72: 248-254 (1976)
- Korea Food and Drug Administration. Korea Food Additives Code. Seoul, Korea (1998)
- Reitman S, Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am. J. Clin. Pathol. 28: 56-63 (1957)
- Wroblewski F, Ladue JS. Lactic dehydrogenase activity in blood. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 90: 210 (1955)
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193: 265-275 (1951)
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem. 95: 351-358 (1979)
- Habig WH, Pabst MJ, Jackoby WB. Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249: 7130-7139 (1974)
- Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes: Evidence for its heme-protein nature. J. Biol. Chem. 239: 2370-2378 (1964)
- Selhub J. Homocysteine metabolism. Ann. Rev. Nutr. 19: 217-246 (1999)
- Barak AJ, Tuma DJ. Betaine: metabolic by-product or vital methylating agent. Life Sci. 32: 771-774 (1983)
- Chambers ST. Betaines: Their significance for bacteria and the renal tract. Clin. Sci. 88: 25-27 (1995)
- Junnila M, Barak AJ, Beckenhauger HC, Rahko T. Betaine reduces hepatic lipidosis induced by carbon tetrachloride in sprague-dawley rats. Vet. Hum. Toxicol. 40: 263-266 (1998)
- Harper AE, Monson WJ, Benton DA, Elvehjen CA. The influence of protein and certain amino acids, particularly threonine, on the disposition of fat in the liver of the rats. J. Nutr. 50: 383-383 (1953)
- Burk RF, Reiter R, Lane JM. Hyperbaric oxygen protection against carbon tetrachloride hepatotoxicity in the rat. Gastroenterol. 90: 812-818 (1986)
- Edwards M, Keller BJ, Kauffman FC, Thurman RG. The involvement of kupffer cells in carbon tetrachloride toxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 119: 275-279 (1993)
- Elsisi AED, Hall P, Sim WL, Earnest DL, Sipes IG. Characterization of vitamin A potentiation of carbon tetrachloride-induced liver injury. Toxicol. Appl. Pharmacol. 119: 280-288 (1993)
- Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000, a historical look to the future. Ann. NY Acad. Sci. 899: 136-147 (2000)
- Horton AA, Fairhurst S. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. CRC Crit. Rev. Toxicol. 18: 27-79 (1987)
- Didem DO, Mustafa A, Goknur A, Ender E, Erdem Y, Fatma E. Evaluation of hepatoprotective effect of gentiana olivieri herbs on subacute administration and isolation of active principle. Life Sci. 72: 2273-2283 (2003)
- Har BJ, Lee JY. The effect of chondroitin sulfate against CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity. Bio. Pharm. Bull. 26: 622-626 (2003)
- Castro JA. Mechanistical studies and prevention of free radical cell injury. Vol. 2, pp. 243-250. In: Proceedings of the IUPHAR 9th international congress of pharmacology. Macmillan Press, London, United Kingdom (1984)
- Brattin WJ, Glende EA Jr, Recknagel RO. Pathological mechanisms in carbon tetrachloride hepatotoxicity. Free Radic. Biol. Med. 1: 27-27 (1985)
- Boylard E, Chasseaud LF. The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. Adv. Enzymol. 32: 173-219 (1969)
- Jakoby WB. The glutathione-S-transferases: A group of multifunctional detoxification proteins. Adv. Enzymol. Relat. Areas. Mol. Biol. 46: 383-414 (1978)
- Yoon CG, Park HS, Lee SI. Effect of dietary tungstate on the liver damage in CCl<sub>4</sub>-treated rats. J. Korean Soc. Food Nutr. 22: 678-684 (1993)
- Kim SY, Lee HS, Ryu KS, Lee EJ, Kim YJ. The hepatoprotective effect of *Sangbakpi* extract on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. Yakhak Hoeji 43: 391-396 (1999)
- Kim OK. Protective effects of extracts of *Hovenia dulcis* Thunb. on hepatotoxicity in carbon tetrachloride intoxicated rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30: 1260-1265 (2001)
- Guengerich FP. Human cytochrome P-450 enzymes. Life Sci. 50: 1471-1478 (1992)
- Fernandez G, Villarruel MC, Toranzo EG, Castro JA. Covalent binding of carbon tetrachloride metabolites to the heme moiety of cytochrome P-450 and its degradation products. Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol. 35: 283-290 (1982)
- Tomasi A, Albano E, Banni S, Botti B, Corongiu F, Dessi MA, Iannone A, Vannini V, Dianzani MU. Free-radical metabolism of carbon tetrachloride in rat liver mitochondria. A study of the mechanism of activation. Biochem. J. 246: 313-317 (1987)
- Le Page RN, Cheeseman KH, Osman N, Slater TF. Lipid peroxidation in purified plasma membrane fractions of rat liver in relation to the hepatotoxicity of carbon tetrachloride. Cell. Biochem. Funct. 6: 87-99 (1988)
- Lee TH. The effect of ginseng on hepatic drug metabolizing enzyme in rats. Yakhak Hoeji 25: 145-151 (1981)
- Bae SJ, Kim NH, Koh JB, Roh SB, Jung BM. Effects of godulbaegi (*Ixeris Sonchifolia* H.) diets on enzyme activities of CCl<sub>4</sub> induced hepatotoxicity in rats. J. Korean Nutr. Soc. 30: 19-24 (1997)