

에탄올 투여 흰쥐의 지질대사 및 간 독성 저하에 미치는 인진쑥 및 눈꽃동충하초의 영향

한은경 · 김영섭 · 유윤숙 · 정의진 · 이지영 · 정차권[†]
한림대학교 식품영양학과

Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the Reduction of Hepatotoxicity and Lipid Metabolism Induced by Ethanol

Eun-Kyung Han, Yong-Xie Jin, Yoon-Sook Yoo, Eui-Jin Jung,
Ji-Young Lee, and Cha-Kwon Chung[†]

Dept. of Food and Nutrition, Hallym University, Gangwon 200-702, Korea

Abstract

The purpose of this study was to identify the inhibitory effect of hepatic toxicity and liver lipid metabolism after administration of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica*. Along with the control, SD rats were divided into ethanol treated group with subgroups of 6% *Artemisia capillaris* (6A), 4% *Artemisia capillaris*+2% *Paecilomyces japonica* (4A2P), 3% *Artemisia capillaris*+3% *Paecilomyces japonica* (3A3P), 2% *Artemisia capillaris*+4% *Paecilomyces japonica* (2A4P) and 6% *Paecilomyces japonica* (6P). In this study we also intended to verify the optimum ratio of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* which can reduce hepatotoxicity. *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* reduced cholesterol and triglyceride levels which were increased by ethanol. Total-cholesterol level was decreased the most in the groups of 4A2P and 3A3P. On the other hand, activity of superoxide dismutase (SOD) was enhanced significantly ($p<0.05$). Malondialdehyde (MDA) activity was decreased significantly ($p<0.05$) in the subgroup of 6A and 4A2P. When the ratio of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* was 2:1, the improvement of the rat serum and liver lipid metabolism and the alleviation of hepatic damage by ethanol were the most effective in this study. Therefore, it can be considered that the symptoms of severe chemically induced hepatotoxicity could be reduced by *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* administration.

Key words: *Artemisia capillaris*, *Paecilomyces japonica*, ethanol, hepatotoxicity

서 론

술은 인류역사와 더불어 전 세계적으로 사람들이 즐겨 마시는 기호식품으로 최근자료에 의하면 한국인의 음주율은 점차 증가되고 있다. 술에 의한 지방간, 알코올성 간염, 간경변 및 간암 등의 질환증가로 만성적인 알코올 섭취는 건강에 치명적인 위해요인으로 간주되고 있다.

알코올은 간에서 주로 alcohol dehydrogenase(ADH)에 의해, 과량 섭취 시에는 microsomal ethanol oxidizing system(MEOS)에 의하여 acetaldehyde로 대사된다. Acetaldehyde는 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 의해 acetate로 대사되고 acetyl-CoA를 거쳐 에너지를 발생하거나 콜레스테롤과 지방산을 합성하는데 사용된다. 만성적인 또는 과량의 알코올 섭취는 NADH/NAD⁺의 비율을 증가시켜 탄수화물, 지방 및 단백질대사 장애를 초래하는데 특히 간에서

지방산의 산화가 억제되는 동시에 지방산 합성이 증가되어 지방간을 초래한다(1,2). 또한 간세포의 마이크로솜 알코올 산화효소(MEOS)를 유도하고 이 과정에서 유도되는 cytochrome P4502E1(CYP2E1)은 reactive oxygen species(ROS)를 정상적인 조건에서보다 4~8배 정도 많이 생성한다. 이때 생성된 ROS가 생체막의 불포화지방산에 작용, 과산화지질을 생성하여 세포의 산화적 손상을 초래하고 여러 질환의 발생 및 노화를 촉진하게 된다(3-6).

인체에는 과잉 생성된 ROS를 제거하여 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한 항산화 기전이 존재하는데 그 중 한 가지 방법은 항산화 비타민이나 flavonoids와 같은 항산화제에 의해 제거되는 것이고 다른 한 가지 방법은 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione S-transferase(GST), glutathione peroxidase(GSH-px) 등과 같은 항산화 효소에 의해 제거되는 것으로 이러한 기전이 산화적인 손상

[†]Corresponding author. E-mail: ckc@hallym.ac.kr
Phone: 82-33-248-2131, Fax: 82-33-256-9450

으로부터 신체를 방어하는 역할을 한다(7,8).

인진(*Artemisia capillaris*)은 국화과(Compositae) 쑥 속(*Artemisia*)에 속하며 한국을 비롯하여 중국, 일본 등 아시아 및 유럽 등에 분포하는 번식력이 강한 다년생 초본으로서 생약 명으로는 인진호, 인진, 추호 등이 있고, 민간에서는 인진쑥이라고 불리며, 사철쑥(*Artemisia capillaris* Thunb.), 더위지기(*Artemisia iwayomogi*), 제비쑥(*Artemisia angustata*), 털산쑥(*Artemisia sacrorum subsp. manshurica* K.) 등으로 분류되고 있다(9). 한방에서 인진쑥은 전통적으로 변비, 천식, 소염, 진통, 이뇨, 혈압강하, 신경통, 급·만성 간염, 황달, 지방간 및 간 기능 개선의 목적으로 많이 이용되어 왔으며 항산화작용, 간 보호효과, 항균작용, 당 대사 개선 효과, 항암효과, 담즙분비효과, 지질과산화 억제효과 등이 있는 것으로 알려져 있다(10-13). Lee 등(12)은 산쑥은 catechol, ferulic acid, caffeic acid, protocatechuic acid와 같은 다양한 페놀화합물을 함유하고 있어 항산화 효과가 뛰어난 식품으로 보고하였으며 Nam 등(14)은 쑥 추출물이 항산화 효소인 SOD, catalase, GST의 활성을 증가시킨다고 하였으며 또한 고지혈증 흰쥐에서 혈중 지질 및 간지질 수준을 저하시켜 지질대사 개선 효과도 있는 것으로 보고되고 있다(15,16).

동충하초는 곤충의 애벌레, 번데기, 성충에 포자가 침입하여 기주 안에서 내성균 핵을 만든 후 온도와 습도가 높아지면 밖으로 자실체를 형성하는 버섯의 일종으로 고대 중국에서부터 결핵, 천식, 마약중독 해독, 자양강장제 등의 한약재로 사용되어 왔으며(17-19), 항균효과, 항종양, 항 당뇨, 면역 기능 증가, 신장 기능의 보호 및 회복효과, 생체 산화방지, 자양강장 효과가 있는 것으로 밝혀져 고지혈증, 심혈관계 질환, 당뇨병, 신장병, 호흡기계 질환, 성기능 장애 등에 임상적으로 활용되고 있다(20-25). Heo 등(26)은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)과 ferric ion reducing antioxidant power(FRAP)를 활용한 항산화 활성실험에서 다수의 동충하초 추출물에서 항산화 활성이 있음을 보고한 바 있으며 흰쥐를 대상으로 한 Kwon 등(27)의 연구에서도 동충하초가 항산화효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한 Koh(28) 및 Koo와 Lee(29)는 동충하초가 혈장 중성지질 및 총 콜레스테롤을 감소시키는 것으로 보고하여 동충하초는 항산화 효과뿐 아니라 지질대사 개선 효과도 있는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 간 기능 개선효과, 항산화 효과, 지질대사 개선효과가 있는 것으로 알려진 인진쑥과 눈꽃동충하초를 사용하여 알코올을 과량 투여한 흰쥐에서 인진쑥과 눈꽃동충하초의 단독 투여와 인진쑥과 눈꽃동충하초의 병행투여 시 지질 대사 개선 및 간 독성 저하효과를 살펴보고 기능성 소재로서 인진쑥 이외에 눈꽃동충하초를 함께 사용함으로써 상승효과를 얻을 수 있는지와 이들의 혼합비율을 어떻게 조절할 것인가 알아보려고 실시하였다.

재료 및 방법

시료의 제조

강원도 양양 소재 서광농협으로부터 건조된 인진쑥(*Artemisia capillaris*)과 눈꽃동충하초(*Paecilomyces japonica*)를 공급받아 분쇄기로 균질하게 분쇄하여 실험재료로 사용하였다.

실험동물의 사육 및 식이

생후 4주의 평균체중이 90 g정도인 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 (주)대한바이오링크사로부터 분양받아 일반 배합사료로 일주일간 적응기간을 거친 후, 체중에 따라 난괴법(randomized complete block design)에 의해 6마리씩, 정상식이군(normal), 대조군(control), 인진쑥첨가군, 눈꽃동충하초첨가군, 인진쑥과 눈꽃동충하초를 각각 2:1, 1:1, 1:2 비율로 첨가한 7개 군으로 구분하여 해당 식이로 5주간 사육하였다. 정상식이군을 제외한 대조군 및 인진쑥, 눈꽃동충하초 투여군은 Liu 등(30)의 방법에 따라 25% 에탄올을 5 mL/kg BW로 매일 물에 희석하여 투여하였고 정상식이군은 에탄올과 동일한 열량의 sucrose 용액을 물 대신 섭취시켰다.

본 실험에 사용한 실험식은 AIN-76(American Institute of Nutrition, 1977)에 의거하였고 실험식의 구성성분은 Table 1과 같다. 물과 식이는 제한 없이 투여하였으며(*ad libitum*) 실험실의 사육조건은 실내온도는 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 50%로 유지시켰고 명암은 12시간(08:00~20:00)을 주기로 자동 조절하였다.

식이섭취량 및 식이효율 및 체중 측정

체중과 식이섭취량은 일주일에 3회, 일정시간에 측정하였으며 식이섭취로 인한 체중 변화를 막기 위해 체중 측정 2시간 전에 급이기를 제거하였다. 식이효율(food efficiency ratio: FER)은 실험 전 기간의 체중증가량을 같은 실험기간 동안 섭취한 식이량으로 나눠 계산하였다.

$$\text{FER} = \text{Body weight gain (g)} / \text{Food intake (g)}$$

시료 채취 및 분석

실험 종료 전 실험동물을 12시간 절식시키고 diethyl ether로 마취시킨 후 경추탈골법에 의하여 도살하고, cardiac puncture 방법으로 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 장기는 혈액 채취 후 즉시 적출하여 생리식염수로 세척하고 여과지로 표면의 수분을 제거한 후 각 장기의 무게를 측정하였으며 장기와 혈청은 분석 전까지 -70°C 냉동고에 보관하였다.

혈청 및 간지질 분석

총 cholesterol, HDL-cholesterol 농도는 cholesterol esterase를 이용한 측정용 kit(아산제약, Hwaseong, Korea)를 사용하여 500 nm에서, 중성지방은 GPO-POD법을 이용한

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Control ¹⁾	6A ²⁾	4A2P ³⁾	3A3P ⁴⁾	2A4P ⁵⁾	6P ⁶⁾
Casein	17	17	17	17	17	17
Mineral Mix ⁷⁾	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin Mix ⁸⁾	1	1	1	1	1	1
DL-Methionine	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
α -Cellulose ⁹⁾	2	1	1	1	1	2
Corn starch	62.32	57.32	57.32	57.32	57.32	56.32
Sucrose	10	10	10	10	10	10
<i>Artemisia capillaris</i>	—	6	4	3	2	—
<i>Paecilomyces japonica</i>	—	—	2	3	4	6
Corn oil	4	4	4	4	4	4
Total	100	100	100	100	100	100

¹⁾Control: Ethanol+Basal diet.

²⁾6A: Ethanol+6% *A. capillaris* of experiment diet.

³⁾4A2P: Ethanol+4% *A. capillaris* and 2% *P. japonica* of experiment diet.

⁴⁾3A3P: Ethanol+3% *A. capillaris* and 3% *P. japonica* of experiment diet.

⁵⁾2A4P: Ethanol+2% *A. capillaris*+4% *P. japonica* of experiment diet.

⁶⁾6P: Ethanol+6% *P. japonica* of experiment diet.

⁷⁾Mineral mixture (g/kg), AIN-76 Composition.

⁸⁾Vitamin mixture (g/kg), AIN-76 Composition.

⁹⁾Cellulose: Sigma Co.

kit(아산제약)로 550 nm에서 분광광도계(UV-1601, Shimadzu, Nakagyo-ku, Japan)를 사용하여 비색 정량하였다. LDL-cholesterol은 혈액 생화학 측정기 Kornelab 20XT (Thermo, Vantaa, Finland)를 사용하여 측정하였다. 심혈관계질환의 위험도 판정에 사용되는 동맥경화지수(AI: atherogenic index) 및 HTR(high density lipoprotein cholesterol and total cholesterol ratio)은 다음 식으로 계산하였다.

$$\text{Atherogenic index (AI)} = (\text{total cholesterol} - \text{HDL cholesterol}) / \text{HDL cholesterol}$$

$$\text{HTR} = \text{HDL cholesterol} / \text{total cholesterol}$$

간의 지질은 Folch 등(31)과 Bligh-Dyer(32)의 방법을 변형하여 추출한 후 간 지질 측정에 사용하였다. 총 지질의 함량은 적출된 간 1 g에 chloroform-methanol(2:1, v/v) 용매를 가하여 homogenizer로 균질화하고, shaking 한 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하고 chloroform층을 수기에 담았다. 남은 간 시료에 다시 chloroform을 가해 원심분리하여 3 mL의 chloroform층을 수기에 옮겨 총 6 mL를 감압건조한 후 함량을 구하였다. 총 콜레스테롤, 중성지질은 추출한 총 지질을 3 mL의 chloroform에 녹여 질소가스로 용매를 날린 후 혈청과 같은 방법으로 kit를 사용하여 측정하였다.

간조직의 항산화효소 활성 및 과산화지질 함량 측정

간조직 1 g을 취하여 0.25 M sucrose buffer를 가하여 균질화 시킨 후 600 g에서 15분간 원심분리 하여 상등액을 취하여 항산화효소 활성도를 측정하였다(33).

Catalase 활성도는 Abei 방법(34)에 따라 SOD 측정은 Crapo 등의 방법(35), GST활성 측정은 Habig 등의 방법(36)에 따라 측정하였다.

간조직의 MDA의 측정은 Jareno 등(37)과 Kim 등(38)의

방법을 이용하여 분광광도계로 532nm에서 비색정량 하였다.

혈청 중의 ALT, AST 활성 측정

AST, ALT효소 활성은 Ektachem DT 60 analyzer (Johnson & Johnson, New York, USA) 분석기를 이용하여 측정하였다. AST, ALT의 활성단위는 혈청 1 L당 Karmen unit(Karmen A, 1955)로 나타내었다.

통계처리

본 연구의 실험 결과는 실험군당 평균(mean)과 표준편차(SD)로 나타내었고, SAS를 이용하여 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 실시한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 각 실험군 평균치간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

체중증가량, 식이섭취량

실험기간 동안 실험동물의 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율은 Table 2에 제시되어 있다. 체중증가량, 식이섭취량, 식이효율은 각 실험군 간의 유의한 차이가 없었으며 이로써 식이에 인진쑥과 눈꽃동충하초를 첨가하는 것이 식이섭취량과 사료효율에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

혈청지질 성분과 심혈관계 지표에 미치는 영향

에탄올과 인진쑥, 눈꽃동충하초 투여에 따른 혈청 내 중성지방, 총 콜레스테롤, HDL-콜레스테롤의 변화는 Table 3과 같다. 혈청 중성지방과 총 콜레스테롤은 정상식이군에 비해 에탄올 투여 시 유의하게 증가되었다. Barona와 Liber(39), Bottiger 등(40)은 알코올을 장기간 섭취 시 고중성지방혈증

Table 2. Body weight gain, food intake, and food efficiency ratio of ethanol-treated rats

Group ¹⁾	Body weight gain (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio
Normal	5.91±0.40 ^{2)NS3)}	21.64±1.06 ^{NS}	0.27±0.02 ^{NS}
Control	5.28±0.72	20.66±1.08	0.26±0.03
6A	5.59±0.57	20.48±0.78	0.26±0.02
4A2P	5.74±0.51	20.27±0.78	0.28±0.03
3A3P	5.51±0.64	19.73±0.78	0.28±0.03
2A4P	5.57±0.45	19.83±0.88	0.27±0.02
6P	5.57±0.45	19.26±0.72	0.27±0.02

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Not significant.

과 고콜레스테롤혈증을 유발한다고 보고하였으며 Lee 등 (41)도 에탄올 투여 시 혈청 내 총 지질 및 중성지방 함량이 대조군에 비해 증가됨을 보고하여 본 실험의 결과와 일치하고 있다. 에탄올 투여로 인해 증가된 혈청 내 중성지방과 총 콜레스테롤은 인진쑥과 눈꽃동충하초의 병행투여 시 저하되었으며 특히 인진쑥과 눈꽃동충하초를 동량투여한 군에서 유의하게 낮았다. HDL-콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤, HTR은 실험군 간에 유의한 차이가 없었으나 Fig. 1에서 보는 바와 같이 인진쑥과 눈꽃동충하초를 병행투여 한 경우

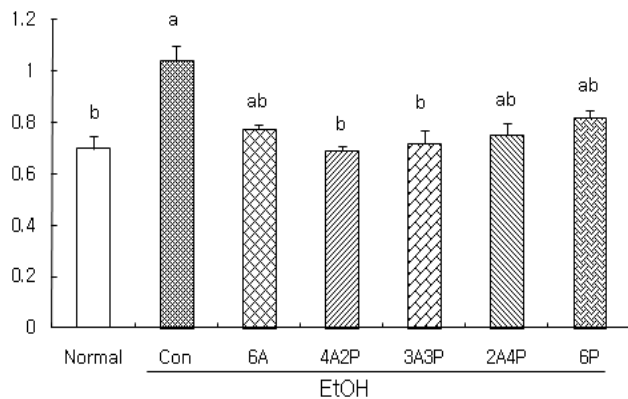


Fig. 1. Effect of various level of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the atherogenic index (AI) values of ethanol-treated rats.

에탄올 투여 대조군에 비해 동맥경화지수(AI)를 저하시켰으며 특히 인진쑥과 눈꽃동충하초를 동량투여한 군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초를 병행투여한 군에서 유의하게 낮아져 정상식이군의 수준으로 저하되는 것으로 나타났다.

Nam 등(15)은 쑥 에탄올 추출물이 간과 혈청 중성지방 및 콜레스테롤을 저하시킨다고 보고하였으며 Ham 등(42)은 Triton WR-1339를 투여하여 유발된 고지혈증 흰쥐에서 인진쑥이 혈청 콜레스테롤과 중성지방을 저하시킨다고 보고하였으며 Lee 등(9)은 사철쑥 추출물과 분말 첨가 시 혈청 콜레스테롤을 저하시킨다고 보고한 바 있다. 또한 Kwon 등 (27), Koh(28), Koo 등(29)은 동충하초 투여 시 총 콜레스테롤 및 중성지방 농도가 감소한다고 보고하였다. 이와 같이 인진쑥과 동충하초는 각각 혈청 콜레스테롤 및 중성지방을 저하시키는 것으로 보고된 바 있는데 본 연구에 의하면 인진쑥과 눈꽃동충하초를 단독으로 투여하는 것보다 병행투여 시 효과가 높은 것으로 나타나 알코올 섭취로 인한 혈청지질대사를 개선시키는데 인진쑥과 눈꽃동충하초를 병행투여하는 것이 효과적인 것으로 사료된다.

간 지질에 미치는 영향

에탄올 투여 대조군의 총 지질과 중성지질은 정상식이군에 비해 유의하게 높아 에탄올 섭취로 인해 간 내 지질 함량이 상승되는 것으로 나타났다(Table 4). 이는 Lieber 등(43-46)이 보고한 만성적인 에탄올 섭취 시 간에서 지방산 합성은 촉진되고 분해는 억제되므로 지방이 축적되어 지방간을 유발하며 영양상태가 양호한 상태에서도 장기간의 에탄올 섭취로 지방간이 유발될 수 있다고 한 보고와 일치한다.

에탄올 투여에 의해 증가된 총 지질은 6% 인진쑥 투여군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군의 경우 감소되어 인진쑥 함량이 높을수록 총 지질 함량이 낮아졌으며 인진쑥과 눈꽃동충하초를 동량으로 투여한 경우 저하효과가 나타나지 않았다 그러나 눈꽃동충하초의 비율이 높아짐에 따라 총 지질량이 증가하여 6% 눈꽃동충하초 투여군의 경우 에탄올만을 투여한 대조군보다도 다소 증가되었으나 유의성은 나타나지 않았다.

Table 3. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the concentration of serum lipids of ethanol-treated rats (mg/dL)

Group ¹⁾	Triglyceride	Total-cholesterol	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol	HTR
Normal	72.97±1.38 ^{2)d3)}	69.94±4.83 ^b	42.02±4.10 ^{NS4)}	12.21±2.01 ^{NS}	0.57±0.03 ^{NS}
Control	94.11±1.95 ^a	85.10±4.14 ^a	41.14±2.63	13.03±1.57	0.48±0.03
6A	92.26±1.90 ^{ab}	81.28±5.70 ^{ab}	45.79±3.03	11.71±1.27	0.56±0.01
4A2P	89.03±2.74 ^{abc}	73.34±1.84 ^b	43.62±3.91	12.58±0.38	0.59±0.04
3A3P	81.10±3.61 ^c	72.78±3.75 ^b	42.33±0.88	10.69±0.58	0.57±0.03
2A4P	83.71±2.32 ^c	74.45±1.80 ^{ab}	42.43±2.04	11.27±0.77	0.57±0.04
6P	84.19±3.39 ^{bc}	76.55±1.69 ^{ab}	41.83±0.33	11.76±0.37	0.55±0.02

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with all common superscripts within the same column are not significantly different (p<0.05).

⁴⁾Not significant.

Table 4. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the concentration of the liver lipids of ethanol-treated rats (mg/g liver)

Group ¹⁾	Total-lipids	Triglyceride	Total-cholesterol
Normal	32.02±1.26 ^{2)c3)}	5.85±0.14 ^{bc}	8.46±0.40 ^{ab}
Control	36.86±1.02 ^{ab}	7.42±0.81 ^a	9.49±0.53 ^a
6A	34.65±1.23 ^{bc}	6.48±0.47 ^{abc}	8.45±0.94 ^{ab}
4A2P	32.57±2.04 ^{bc}	5.47±0.65 ^c	7.96±0.40 ^b
3A3P	35.38±1.10 ^{abc}	5.73±0.13 ^c	9.10±0.45 ^{ab}
2A4P	36.58±1.04 ^{ab}	6.19±0.89 ^{bc}	9.24±0.61 ^a
6P	38.24±1.61 ^a	6.93±0.42 ^{ab}	9.29±0.54 ^a

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with all common superscripts within the same column are not significantly different (p<0.05).

중성지방 농도는 대조군이 정상식이군보다 약 26.76%의 유의하게 증가되었다. 에탄올 투여로 증가된 중성지방은 인진썩과 눈꽃동충하초를 단독으로 투여하는 군보다 인진썩과 눈꽃동충하초를 병행투여한 군에서 유의하게 저하되었으며 특히 4% 인진썩과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군과 인진썩과 눈꽃동충하초 동량투여군에서 유의하게 감소되었다 (p<0.05). Koh(28)는 동충하초가 간의 콜레스테롤 및 중성지질 농도를 감소시키는 효과가 있는 것으로, Nam 등(15)은 썩 추출물이 간에서 지질축적을 저하시키는 것으로 보고한 바 있는데 본 연구에 의하면 이러한 인진썩과 눈꽃동충하초의 간지질 개선효과는 인진썩과 눈꽃동충하초를 병행투여할 경우 그 효과가 상승되는 것으로 사료된다. 콜레스테롤은 대조군의 경우 정상식이군보다 약 12.12% 증가하였으나 4% 인진썩과 2% 눈꽃동충하초 병행투여 시 대조군에 비해 16.12% 유의하게 감소되었다. 반면에 눈꽃동충하초의 비율이 증가된 군의 경우 대조군과의 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이상의 결과에서 살펴볼 때 간의 지질 농도는 인진썩과 눈꽃동충하초를 단독으로 투여하는 것보다 병행투여 시 개선효과가 큰 것으로 나타났으며 병행투여할 경우 눈꽃동충하초보다 인진썩의 비율이 높은 인진썩 4%, 눈꽃동충하초 2%로 병행투여하는 것이 가장 효과적으로 지질대사를 개선할 것으로 사료된다.

간 기능효소에 미치는 영향

에탄올 및 인진썩과 눈꽃동충하초 투여 후 간 손상정도를 나타내는 지표로 알려진 혈청 ALT, AST의 활성 변화는 Table 5와 같다. Aspartate transaminase(AST)는 간과 심장에 고농도로 존재하며 혈중 AST의 활성은 세포손상도와 비교적 상관성이 좋아 간염, 간 경변 등의 지표로 널리 사용하며, Alanine transaminase(ALT)는 여러 조직에 광범위하게 존재하나 특히 간에서 가장 높은 활성도를 가져 통상적으로 혈중 ALT는 간염과 간 괴사, 간 경변 등으로 인해 활성이 증가하는 성질이 있어 간 손상 지표로 사용하고 있다.

혈청 ALT, AST는 대조군의 경우 정상식이군보다 각각 약 28.34%, 26.81% 유의하게 증가되었다. 이는 에탄올에 의

Table 5. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the activities of serum alanin transaminase (ALT) and aspartate transaminase (AST) of ethanol-treated rats (unit/L)

Group ¹⁾	ALT	AST
Normal	43.83±2.40 ^{2)c3)}	79.25±6.13 ^b
Control	56.25±1.50 ^a	100.50±3.69 ^a
6A	49.20±5.54 ^{bc}	90.50±10.21 ^{ab}
4A2P	49.00±5.48 ^{bc}	89.00±11.94 ^{ab}
3A3P	50.00±4.79 ^{abc}	83.50±14.62 ^{ab}
2A4P	52.20±5.49 ^{ab}	85.00±15.25 ^{ab}
6P	53.25±4.11 ^{ab}	88.75±8.62 ^{ab}

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with all common superscripts within the same column are not significantly different (p<0.05).

한 간 손상 유발물질이 간세포를 손상시켜 혈청 중 ALT, AST 및 ALP 활성이 증가되는 것으로 보고한 연구결과와 일치하고 있다(47-50). Kim과 Lee(33)는 물썩 에탄올 추출물이 에탄올 투여로 증가된 혈청 AST, ALT 및 ALP 활성을 감소시켜 간세포 손상을 저하시키는 것으로 보고하였으며 Nam 등(14)도 인진썩 알코올 추출물이 GOT, GPT 및 ALP의 활성을 감소시키는 것으로 보고하여 썩은 종류가 다를 지라도 간 기능을 보호하는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. Jo 등(51)은 굼벵이 유래 밀리타리스 동충하초의 열수 추출물이 사염화탄소 투여에 의해 증가된 혈 중 GOT, GPT를 저하시켜 간 조직 보호에 유효한 효과가 있다고 보고하였으며 사염화탄소로 인해 상승된 AST, ALT의 활성이 동충하초 추출액 투여로 유의하게 감소되어 간 독성을 억제하는 효과가 있다고 보고한 바 있다. 본 실험 결과 에탄올 투여에 의해 상승된 혈청 AST, ALT는 6% 인진썩 단독투여군과 4% 인진썩과 2% 눈꽃동충하초를 병행투여 한 경우 활성이 유의하게 감소되는 것으로 나타나 에탄올에 의한 간세포 손상을 저하시키는 데는 인진썩의 투여비율이 높은 것이 효과적인 것으로 나타났다.

항산화효소에 미치는 영향

만성적인 음주는 ROS를 정상적인 조건에서보다 많이 생성하는데 생체 내에서는 이러한 반응성 산소종으로부터 세포막과 생체 내 물질을 보호하기 위해 SOD, catalase, GST, GSH-px 등의 항산화 효소계가 작용한다. Nam 등(15)은 썩 에탄올 추출물이 catalase와 Cu, Zn-SOD와 같은 항산화효소의 활성을 증가시켜 생성된 hydroxide와 O₂를 효과적으로 제거해주어 세포손상을 막아준다고 보고하였고 Liu 등(52)은 생쥐의 균질화된 간을 동충하초 물 추출물과 배양한 결과 0.3 mg/mL 농도의 동충하초 물 추출물의 경우 SOD 활성을 증가시켰다고 보고한 바 있다. 본 연구에서 에탄올 투여 후 인진썩, 눈꽃동충하초의 투여에 의한 항산화효소 활성 변화를 나타낸 결과는 Table 6과 같다. Catalase, SOD 활성은 대조군의 경우 유의하게 저하되었으며 인진썩과 눈

Table 6. Effect of *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* on the activity of catalase, SOD, and GST of ethanol-treated rats (unit/mg protein)

Group ¹⁾	Catalase	SOD	GST
Normal	29.90±0.55 ^{2)a3)}	28.49±0.91 ^a	9.28±0.54 ^{NS}
Control	26.15±2.55 ^c	25.95±1.73 ^c	8.02±0.60
6A	27.98±0.91 ^{bc}	27.32±0.32 ^{abc}	9.14±1.51
4A2P	28.45±1.35 ^{ab}	27.60±0.93 ^{ab}	9.24±0.75
3A3P	27.30±1.09 ^{bc}	26.55±0.92 ^{bc}	9.28±0.91
2A4P	27.31±1.18 ^{bc}	27.14±0.74 ^{abc}	9.04±1.24
6P	27.02±0.38 ^{bc}	28.05±1.23 ^{ab}	9.16±0.87

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with all common superscripts within the same column are not significantly different (p<0.05).

꽃동충하초의 투여로 다소 증가되는 것으로 나타났으며 SOD의 경우 6% 동충하초 단독투여군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군에서 유의하게 증가하는 것으로 나타났다. GST활성은 catalase와 SOD와 유사한 경향을 보이나 유의성은 나타나지 않았다.

과산화지질에 미치는 영향

에탄올 투여 시 인진쑥, 눈꽃동충하초의 투여가 간 조직 내 과산화지질의 분해산물인 malondialdehyde(MDA) 함량에 미치는 효과는 Table 7에 제시되어 있다. 에탄올투여군의 간 조직 내 MDA 함량은 정상식이군에 비해 유의하게 증가되었다. 이는 에탄올 투여로 간 균질액의 MDA가 유의하게 증가된다는 Comporti 등(53)의 보고와 Kim과 Lee(33), Choi 등(48)의 보고와 일치하고 있다. 에탄올 섭취 시 대사산물인 acetaldehyde가 cytosolic xanthine oxidase와 작용하여 O₂⁻를 생성하고 이것이 세포막의 불포화지방산을 산화시켜 MDA 생성을 증가시키는데(54), Cho 등(55)은 인진쑥, 사철쑥, 약쑥 등의 성분으로 알려진 scoparone(6,7-dimethoxycoumarin)이 사염화탄소로 처리한 쥐의 간세포배양에서 MDA생성을 유의하게 억제시킴으로써 세포막 손상에 대해 보호 작용이 있다고 하였으며 Lee 등(9)은 사철쑥 추출물과 6% 사철쑥 분말 투여 시간의 과산화 지질물을 감소시킴을,

Table 7. Changes of the liver malondialdehyde contents in ethanol-treated rats fed *Artemisia capillaris* and *Paecilomyces japonica* (nmol MDA/mg protein)

Group ¹⁾	MDA
Normal	7.24±0.66 ^{2)c3)}
Control	9.48±0.57 ^a
6A	8.28±1.13 ^b
4A2P	8.18±0.57 ^b
3A3P	8.91±0.39 ^{ab}
2A4P	9.00±1.02 ^{ab}
6P	9.29±0.35 ^a

¹⁾Refer to Table 1.

²⁾Mean±SD.

³⁾Values with all common superscripts within the same column are not significantly different (p<0.05).

Kim과 Lee(33)는 쑥 추출물이 흰쥐에 에탄올을 투여하여 증가된 간의 TBA 반응성 물질 함량을 유의하게 감소시켰다고 하였다. 본 실험에서도 6% 인진쑥 투여군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 투여군, 즉 인진쑥의 함량이 높은 군에서 간의 지질과산화가 억제됨을 보여주고 있다. 그러나 눈꽃동충하초를 동량 이상의 비율로 투여한 경우에는 대조군과 유의한 차이가 나타나지 않았다. Kwon 등(27)의 연구에 의하면 혈장의 지질과산화물은 *P. tenuipes* 건분을 2% 투여한 군이 4%를 투여한 군보다 지질과산화 억제효과가 있는 것으로 보고한 바 있다. 본 실험에서도 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군의 지질과산화 억제효과가 가장 큰 것으로 나타나 Kwon 등(27)의 결과와 유사한 경향을 보여주고 있어 간의 지질과산화를 억제시키기 위해서는 인진쑥과 눈꽃동충하초를 병행투여 하되 인진쑥의 비율이 4%, 눈꽃동충하초를 2% 병행투여 하는 것이 에탄올에 의해 유도되는 간 조직 지질과산화를 가장 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 에탄올을 투여한 흰쥐에서 인진쑥과 눈꽃동충하초의 단독 또는 병행투여가 혈청 및 간의 지질대사와 간 기능 및 항산화효소 활성에 미치는 효과를 살펴보고자 생후 4주령된 흰쥐에게 표준식이를 급여한 정상식이군, 에탄올 투여 대조군, 6%인진쑥과 6% 눈꽃동충하초를 각각 단독투여한 군, 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군, 3%인진쑥과 3% 눈꽃동충하초 병행투여군, 2% 인진쑥과 4% 눈꽃동충하초 병행투여군 등 7군으로 나누고 각 실험식이로 5주간 사육하였다. 혈청 총 콜레스테롤, 중성지방 농도 및 동맥경화지수(AI)는 정상식이군에 비해 에탄올 투여 대조군에서 유의하게 증가되었으나 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군과 3% 인진쑥과 3% 눈꽃동충하초 병행투여군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되는 것으로 나타났다. 에탄올 투여한 흰쥐의 간장 내 총 지질과 총 콜레스테롤 및 중성지방의 함량은 정상식이군보다 증가하였으나 인진쑥과 눈꽃동충하초의 투여로 감소하였으며 특히 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초를 병행투여한 군에서 유의하게 감소하였다. 인진쑥과 눈꽃동충하초의 투여로 ALT의 활성이 대조군에 비해 저하되었으며 6% 인진쑥 투여군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군에서는 유의하게 감소되었고, 인진쑥과 눈꽃동충하초의 단독투여와 비율을 달리한 병행투여는 catalase, SOD등 항산화효소의 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 과산화지질은 에탄올의 투여 시 정상식이군에 비해 유의하게 증가되었으며 이는 6% 인진쑥 투여군과 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초 병행투여군에서 유의하게 감소되었다. 이상의 결과를 보아 인진쑥과 눈꽃동충하초의 투여는 흰쥐의 혈청과 간의 지질 대사를 개선하고, 간의

항산화효소 활성을 증가시키고 동시에 과산화지질을 감소시키는 것으로 나타나 혈중지질 대사를 개선하고, 에탄올에 의한 지방간 및 간 경변과 같은 간 손상을 완화시키는데 효과적일 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 결과 인진쑥과 눈꽃동충하초를 단독으로 투여하는 것보다 병행투여 하는 것이 효과적이며 인진쑥과 눈꽃동충하초의 동량투여와 4% 인진쑥과 2% 눈꽃동충하초를 병행투여 하는 것이 효과적인 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2007년도 한국학술진흥재단 신진교수 연구지원사업(기초과학분야)의 지원을 받아 수행된 연구(2R07-0101-023-S000100)의 일부로 이에 감사드립니다.

문헌

- Mezey E. 1980. Alcoholic liver disease: roles of alcohol and malnutrition. *Am J Clin Nutr* 33: 2709-2718.
- Lieber CS. 2000. Alcohol and the liver: metabolism of alcohol and its role in hepatic and extrahepatic diseases. *Mt Sinai J Med* 67: 84-94.
- Lieber CS. 1994. Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology* 106: 1085-1105.
- Purohit V, Brenner DA. 2006. Mechanisms of alcohol-induced hepatic fibrosis: a summary of the Ron Thurman Symposium. *Hepatology* 43: 872-878.
- Brenner DA, Chojkier M. 1987. Acetaldehyde increases collagen gene transcription in cultured in human fibroblasts. *J Biol Chem* 262: 17690-17695.
- Yoshikawa T, Kondo M. 1989. Free radical lipid peroxidation and vitamin E in liver injury. In *CRC Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine*. Miquel J, Quintanilha AT, Weber H, eds. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. Vol 2, p 167.
- Byers T, Perry G. 1992. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Ann Rev Nutr* 12: 135-159.
- Lawrence RA, Burk F. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952-958.
- Lee HJ, Hwang EH, Yu HH, Song IS, Kim CM, Kim MC, Hong JH, Kim DS, Han SB, Kang KJ, Lee EJ, Chung HW. 2002. The analysis of nutrients in *Artemisia capillaries* Thunberg. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 361-366.
- Kim JO, Kim YS, Lee JH, Kim MN, Lee SH, Park GY. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 308-313.
- Lee JS. 1996. Studies on the antimicrobial effect on mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. *MS Thesis*. The Catholic University, Korea.
- Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1992. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood (*Artemisia montana* Pampan). *J Korean Soc Food Nutr* 21: 17-22.
- Xu QA, Mori H, Sakamoto O, Uesugi Y, Koda A. 1989. Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of crude drugs on tumor necrosis factor production. *Int J Immunopharmacol* 11: 607-613.
- Nam SM, Kim JG, Ham SS, Kim SJ, Chung ME, Chung CK. 1999. Effects of *Artemisia iwayomogi* extracts on antioxidant enzymes in rats administered benzo(a)pyrene. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 199-204.
- Nam SM, Ham SS, Oh DH, Kang IJ, Lee SY, Chung CK. 1998. Effects of *Artemisia iwayomogi* Kitamura ethanol extracts on lowering serum and liver lipids in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 338-343.
- Lim SS, Lee JH. 1997. Effect of *Artemisia princeps* var *Orientalis* and *Cirsium japonicum* var *Ussuriense* on serum lipid of hyperlipidemic rat. *Korean J Nutr* 30: 12-18.
- Ying J, Mao X, Ma Q, Zong Y, Wen H. 1987. *Icones of medicinal fungi from China*. Science Press, Beijing, China. p 575.
- Zhu JS, Halpern GM, Jones K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal regimen, *Cordyceps sinensis* Part I. *J Altern Complement Med* 4: 289-303.
- Zhu JS, Halpern GM, Jones K. 1998. The scientific rediscovery of an ancient Chinese herbal regimen, *Cordyceps sinensis* Part II. *J Altern Complement Med* 4: 2429-2457.
- Liang YL, Liu Y, Yang JW, Liu CX. 1997. Studies on pharmacological activities of cultivated *Cordyceps sinensis*. *Phytother Res* 11: 237-239.
- Manabe N, Sugimoto M, Azuma Y, Taketomo N, Yamashita A, Tsuboi H, Tsunoo A, Kinjo N, Nian-Lai H, Miyamoto H. 1996. Effects of the mycelial extract of cultured *Cordyceps sinensis* on in vivo hepatic energy metabolism in the mouse. *Jpn J Pharmacol* 70: 85-88.
- Guan YJ, Hu Z, Hou M. 1992. Effect of *Cordyceps sinensis* on T-lymphocyte subsets in chronic renal failure. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 12: 338-339,323.
- Zhu JL, Liu C. 1992. Modulating effects of extractum semen *Persicae* and cultivated *Cordyceps hyphae* on immunodysfunction of inpatients with posthepatic cirrhosis. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 12: 207-209,195.
- Kuo YC, Lin CY, Tsai WJ, Wu CL, Chen CF, Shiao MS. 1994. Growth inhibitors against tumor cells in *Cordyceps sinensis* other than cordycepin and polysaccharides. *Cancer Invest* 12: 611-615.
- Balon TW, Jasman AP, Zhu JS. 2002. A fermentation product of *Cordyceps sinensis* increases whole-body insulin sensitivity in rats. *J Altern Complement Med* 8: 315-323.
- Heo JC, Nam SH, Kang SW, Hong IP, Lee KK, Park JY, Kim KH, Han SY, Lee SH. 2007. Comparison of antioxidant, anticancer and immunomodulating activities of extracts from DongChongXiaCao. *Korean J Food Preserv* 14: 681-687.
- Kwon SH, Woo HJ, Han DS, Kim MK. 2001. Effect of dried powders and water extracts of *Paecilomyces tenuipes* and *Cordyceps militaris* on lipid metabolism, antioxidative capacity and immune status in rats. *Korean J Nutr* 34: 271-284.
- Koh JB. 2002. The effect of *Cordyceps militaris* on lipid metabolism, protein levels and enzyme activities in rats fed high fat diet. *Korean J Nutr* 35: 414-420.
- Koo BS, Lee MS. 2004. Effects of *Cordyceps militaris* extract powder on plasma lipids and glucose in rats. *Korean J Food Culture* 19: 217-222.
- Liu SJ, Ramsey RK, Fallon HJ. 1975. Effects of ethanol on hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes in the rat. *Biochem Pharmacol* 24: 369-378.
- Folch J, Less M, Sloane-Stanley GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-509.

32. Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 37: 911-917.
33. Kim KS, Lee MY. 1996. Effect of *Artemisia selengensis* methanol extract on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 581-587.
34. Abei H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Academic press, New York, USA. Vol II, p 673-684.
35. Crapo JD, McCord JM, Fridovich I. 1978. Preparation and assay of superoxide dismutase. *Methods Enzymol* 53: 382-393.
36. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 249: 7130-7139.
37. Jareno EJ, Bosch-Morell F, Fernandez-Delgado R, Donat J, Romero FJ. 1998. Serum malondialdehyde in HIV seropositive children. *Free Radic Biol Med* 24: 503-506.
38. Kim HC, Jhoo WK, Bing GY, Shin EJ, Wei MB, Kim WK, Ko KH. 2000. Phenidone prevents kainate-induced neurotoxicity via antioxidant mechanisms. *Brain Res* 874: 15-23.
39. Barona E, Lieber CS. 1972. Effect of chronic ethanol feeding on serum lipoprotein metabolism in the rat. *J Clin Invest* 49: 769-778.
40. Bottiger LE, Carlson LA, Hultoman E, Romanus V. 1976. Serum lipid in alcoholics. *Acta Med Scand* 199: 357-361.
41. Lee JS, Kim NY, Lee KH, Kim GS, Park HJ, Choi JW, Kim SH. 2000. Effects of flower of *Pueraria lobata* on lipid peroxidation and activities of alcohol metabolic enzymes in alcohol-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 935-942.
42. Ham IH, Jung SW, Lee KJ, Park KH, Choi HY. 2005. Effect of the aerial part of *Artemisia capillaris*, and *A. iwayomogi* on the hyperlipidemia of rats induced by Triton WR-1339. *Kor J Herbology* 20: 45-52.
43. Decarli LM, Lieber CS. 1967. Fatty liver in the rat after prolonged intake of ethanol with a nutritionally adequate new liquid diet. *J Nutr* 91: 331-336.
44. Lieber CS, Jones DP, Mendelson J, DeCarli LM. 1963. Fatty liver, hyperlipemia and hyperuricemia produced by prolonged alcohol consumption, despite adequate dietary intake. *Trans Assoc Amer Physicians* 76: 289-300.
45. Lieber CS, Jones DP, DeCarli LM. 1965. Effects of prolonged ethanol intake: Production of fatty liver despite adequate diets. *J Clin Invest* 44: 1009-1021.
46. Lieber CS. 1992. *Medical and nutritional complications of alcoholism: mechanisms and management*. Plenum press, New York, USA. p 579.
47. Zimmerman HJ. 1982. Chemical hepatic injury and its detection. In *Toxicology of the Liver*. Plaa GL, Hewitt WR, eds. Raven Press, New York, USA. p 1-45.
48. Choi HS, Cha SS, Na MS, Shin KM, Lee MY. 2001. Effect of the ethanol extract of *Cassia tora* L. on antioxidative compounds and lipid metabolism in hepatotoxicity of rats-induced by ethanol. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1177-1183.
49. Kang IJ, Kim HK, Chung CK, Kim SJ, Oh DH. 2000. Effects of *Protoetia Orientalis* (Gory et Perchlou) larva on the lipid metabolism in ethanol administered rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 479-484.
50. Seo BI, Gu DK, Park JH, Kwon SJ. 2003. Effects of water extracts from *Fugu rubripes* with several herbs on hyperlipiderma and liver damage induced by alcohol. *Kor J Herbology* 18: 301-308.
51. Jo WS, Nam BH, Oh SJ, Choi YJ, Kang EY, Hong SH, Lee SH, Jeong MH. 2008. Hepatic protective effect and single-dose toxicity study of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protoetia dreujitarsis*. *Korean J Food Sci Technol* 40: 1-5.
52. Liu Y, Wu C, Li C. 1991. Antioxidation of *Paecilomyces sinensis* (S. pnov). *China J Chinese Materia Medica* 16: 240-242,256.
53. Comporti M, Benedetti A, Chieli E. 1973. Studies on in vitro peroxidation of liver lipids in ethanol-treated rats. *Lipids* 8: 498-502.
54. Plaa GL, Wistschi H. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 16: 125-142.
55. Cho MK, Choe SY, Hong SM, Kim BS. 1998. Effects of scoparone on liver function. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 344-349.

(2009년 5월 26일 접수; 2009년 7월 3일 채택)