

The Hepatoprotective Effects of Hep G2 Cells and the Alcohol-Metabolizing Enzyme Activities of Lemon-Myrtle (*Backhousia citriodora*) Leaf Extracts

Kyung Im Jung¹, Pan Kil Kim^{2,3}, Sang Wan Gal² and Young Ju Choi^{1*}

¹Department of Food & Nutrition, Silla University, Busan 46958, Korea

²Department of Pharmaceutical Engineering, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 52725, Korea

³Department of Medical Laboratory Science, Gimhae College, Gimhae 50811, Korea

Received August 25, 2017 / Revised October 24, 2017 / Accepted October 27, 2017

Lemon myrtle (*Backhousia citriodora*), a plant in the *Myrtaceae* family, is native to the semitropical rain-forests of Queensland and is presumably the most commercialized native spice. In Australian thousands of lemon-myrtle trees are under tillage. This study was carried out to investigate the alcohol metabolism, hepatoprotective effects and antidiabetic, tyrosinase inhibitory activity of hot-water (LMW) and 80% ethanol (LME) extracts from lemon-myrtle leaves. The alpha-glucosidase (α -glucosidase) inhibitory activities of the LMW and LME extracts were 7.66% and 40.29% at 1 mg/ml ($p < 0.05$), respectively. The tyrosinase inhibitory activity of the LME extract was about 38.26 % at 1 mg/ml. The effects the LMW and LME extracts had on alcohol-metabolizing activities were determined by measuring the generation of reduced nicotinamide-adenine dinucleotide (NADH) by acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) and alcohol dehydrogenase (ADH). The ADH activities of the LMW and LME extracts significantly increased in a dose-dependent manner and were about 154.40% and 192.03% at 1 mg/ml, respectively ($p < 0.05$). The ALDH activities of the LMW and LME extracts also significantly increased in a dose-dependent manner and were about 151.14% and 192.34% at 1 mg/ml, respectively ($p < 0.05$). At 100 μ g/ml, the LMW and LME extracts showed significant protective effects against tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. The results suggested that *Backhousia citriodora* leaf extracts have the potential to be significant sources for natural health products.

Key words : Acetaldehyde dehydrogenase, alcohol dehydrogenase, α -glucosidase, hepatoprotective, lemon myrtle

서 론

도금양과(*Myrtaceae*)의 관목인 레몬 머틀(*Backhousia citriodora*)은 오스트레일리아의 토종식물로[32] 상대적으로 많은 양의 오일을 함유하고 있는데 주로 geraniol과 neral의 이성체 혼합물인 citral로 구성되어 있다[29]. 레몬 향이 풍부한 citral은 향균 및 방충 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 레몬 머틀의 잎은 예로부터 오스트레일리아에서는 essential oil, 향수, 허브차, 향신료 등으로 이용되어 왔다[29]. 레몬 머틀에 관한 연구들은 주로 레몬 머틀 잎 추출물이 뼈 형성에 미치는 영향[4]과 항산화 효과[19], 항균 및 항곰팡이 활성[32], 피부독성[10], 세포독성[9] 등이 보고되어 있으나 레몬 머틀 잎 추출물의 항당뇨와 알코올 분해능 및 간세포 보호효과들에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

최근, 경제성장 및 생활수준 향상으로 한국인의 식생활이 서구화로 변화됨에 따라 비만인구의 증가로 인한 당뇨병 환자가 급격히 증가되면서 사회적인 문제로 대두되고 있다[34]. 특히 당뇨병은 망막증, 백내장, 신장질환 등의 합병증을 야기하므로 이에 대한 치료는 탄수화물 소화와 흡수를 느리게 하여 식후 혈당을 저하시키면서 합병증을 예방할 수 있어야 한다. 현재 시판되는 혈당강하제인 voglibose와 acarbose 등은 내성과 소화기장애, 부종, 오심, 체중증가 등의 부작용이 우려됨에 따라 천연물을 이용한 혈당강하제 개발이 요구되고 있다[26].

한편, 알코올은 세포질에서 alcohol dehydrogenase (ADH)와 소포체에서 CYP2E1 (cytochrome P4502E1) 및 퍼옥시좀에서 catalase 등의 3가지 효소에 의하여 acetaldehyde로 바뀐 후 미토콘드리아로 이동하여 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acetate로 산화되는 경로를 거친다[11]. 만성적인 알코올 섭취는 심근경색, 췌장염, 신경장애 및 간조직의 구조와 기능에 치명적인 손상을 초래할 수 있는데[23], 체내의 다른 장기에 비해 간에 미치는 알코올의 영향은 매우 크기 때문에 알코올성 간 손상 억제 및 간 기능 보호효과가 있는 소재의 탐색이 중요하다[14]. 다양한 간세포 기능을 가지고 있는 Hep G2 세포를 이용한 간기능 보호효과에 관한 연구는 tacrine에 의해 유발된 가역적 간손상을 감소시키기 위한 천연 소재개발

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5459, Fax : +82-51-999-5457

E-mail : yjchoi@silla.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

을 위해 중요하다고 생각된다[5]. 알츠하이머 증후군 치료제의 하나인 tacrine은 복용 환자의 30~50%에서 가역적 간 손상을 유발한다고 알려져 있다[2, 31]. 따라서 본 연구에서는 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 항당뇨 효과와 알코올 분해능 및 tacrine으로 유도된 Hep G2 세포를 통한 간세포 보호효과를 확인하여 다양한 제품 개발을 위한 소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

레몬 머틀 열수 및 에탄올 추출

본 연구에 사용한 레몬 머틀 잎(오스트레일리아산)은 상항가(Sanghwanga, Busan, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 후드믹서(FM-681C, HANIL ELECTRIC, Seoul, Korea)로 분쇄한 레몬 머틀 잎 분말 50 g에 용매(증류수, 80% 에탄올) 500 ml를 가하여 증류수 추출은 80°C에서 12시간, 에탄올 추출은 상온에서 24시간 동안 추출하였다. 각각의 추출물은 whatman No. 2 filter paper (Whatman International Ltd., Maidstone, England)로 여과하여 rotary evaporator (EYELA N-1000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축한 다음 동결 건조하여 -70°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 레몬 머틀 열수 추출물과 에탄올 추출물의 수율은 각각 41.6%와 8.0%이었다.

α -Glucosidase 활성억제 효과 측정

레몬 머틀 잎 추출물의 α -glucosidase 활성억제 효과는 다당류가 단당류로 분해되는 경로의 억제능을 볼 수 있는 assay 방법인 Watanabe 등의 방법[30]으로 측정하였다. 먼저 효소용액은 PBS에 2.0 g/l BSA (bovine serum albumin), 0.2 g/l NaN_3 와 함께 효소(0.7 unit/ml, Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, USA)를 용해시켜 만들고, 기질용액은 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNPG, Sigma)를 PBS에 5 mM 농도로 용해하여 만들었다. 효소용액 0.5 ml에 시료 0.1 ml를 넣은 후 405 nm에서 흡광도를 측정하고, 반응 전의 흡광도를 측정 한 후 5분간 실온에 방치, 기질용액 0.5 ml를 넣고 5분간 반응 한 후에 다시 흡광도를 측정하였다. Positive control로는 0.05 mg/ml 농도의 acarbose를 사용하였으며, 저해율은 아래의 식을 사용하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{Inhibitory rate (\%)} = [1 - (\text{시료 첨가구의 흡광도 변화량} / \text{시료 무첨가구의 흡광도 변화량})] \times 100$$

Tyrosinase 저해활성 측정

레몬 머틀 잎 추출물의 tyrosinase 저해활성은 Yagi 등의 방법[33]에 따라 측정하였다. 먼저, 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5)에 기질인 2 mM L-tyrosine solution 및 시료 용액의 혼합액을 mushroom tyrosinase (1,000 unit/ml)와 de-gassed 증류수를 첨가하여 25°C에서 30분간 반응시킨 다음,

490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 효소액 대신 50 mM sodium phosphate buffer (pH 6.5) 20 μ l를 첨가하여 흡광도를 측정 한 값과 시료 용액 대신 TE buffer (pH 8.0) 10 μ l를 첨가하여 흡광도를 측정 한 후 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibitory rate (\%)} = [1 - (\text{시료첨가구의 흡광도} - \text{시료무첨가구의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도})] \times 100$$

Alcohol dehydrogenase (ADH) 활성 측정

ADH 효소활성 측정은 과 Racker [28]와 Choi 등[6]의 방법을 변형하여 측정하였으며, 생성된 NADH의 양을 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시험관에 alcohol 0.1 ml, NAD 수용액(2 mg/ml) 0.5 ml 및 시료 0.1 ml를 첨가하고 10 mM glycine-NaOH buffer (pH 8.8)를 총 부피가 1.8 ml가 되도록 조절하여 25°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후 ADH (10 unit/ml, Sigma)를 가하여 340 nm에서 spectrophotometer (Amersham Pharmacia Biotech, Cambridge, UK)를 이용하여 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조구는 시료대신 증류수를 첨가하였으며, positive control은 약국에서 구입한 hepos를 1/2로 희석하여 사용하였다. ADH의 활성은 아래의 식으로 상대적인 백분율을 계산하였다.

$$\text{ADH activity (\%)} = (\text{실험구의 최대 흡광도} / \text{대조구의 최대 흡광도}) \times 100$$

Acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성 측정

ALDH의 효소활성 측정은 Koivula와 Koivusalo의 방법 [18]을 약간 변형하여 측정하였다. 반응용액은 증류수 2.1 ml 과 1.0 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 0.3 ml, 20 mM NAD^+ 0.1 ml, 0.1 M acetaldehyde 0.1 ml, 3.0 M KCl 0.1 ml, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 ml 및 시료 0.1 ml를 혼합하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 ALDH (1 unit/ml) 0.1 ml를 첨가하여 25°C 항온수조에서 5분간 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조구는 시료대신 TE buffer (pH 8.0)를 첨가하여 상대 활성(%)으로 나타내었고, positive control은 ADH 활성 측정에서와 같이 hepos를 사용하였으며, ALDH 활성 측정은 ADH 활성 측정과 동일한 식을 사용하였다.

Hep G2 세포배양

실험에 사용한 간암세포인 Hep G2는 한국세포주은행 (Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 세포의 배양을 위해 10% heat-inactivated fetal bovine serum과 100 unit/ml penicillin 및 100 μ g/ml streptomycin이 첨가된 MEM (Cellgro by Mediatech, Inc., Manassas, VA, USA) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양하였다.

세포독성 및 간세포 보호 활성 측정

세포의 성장과 cell viability 확인을 위하여 96-well cell cul-

ture plate에 Hep G2 세포를 배지 100 µl에 2×10⁵ cells/well의 농도로 각 well에 분주하여 24시간 배양한 다음 레몬 머틀 열수 및 에탄올 추출물을 처리하였고, 2시간 후 0.2 mM의 tacrine (Santa Cruz Biotechnology Inc., Dallas, TX, USA)을 처리하였다. 24시간 배양한 후 EZ-Cytox cell viability assay solution WST-1[®] (Daeil Lab Service, Jong-No, Seoul, Korea)을 각 well에 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 5시간 동안 반응시킨 다음, ELISA reader를 이용하여 460 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

실험결과는 통계 SAS package (Statistical Analysis System, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 각 시료의 평균 및 표준편차를 계산하였고, 분산분석(ANOVA)과 Duncan’s multiple range test를 실시하여 p<0.05 수준에서 시료간 유의차 검정을 하였다.

결과 및 고찰

α-Glucosidase 활성억제 효과

소장 상피세포의 미세융모막(brush border membrane)에 존재하는 효소[21]인 α-glucosidase는 α-amylase에 의해 분해된 탄수화물을 단당류의 형태로 가수분해하는 효사이므로 α-glucosidase의 활성 저해는 탄수화물의 분해 및 흡수를 지연시킴으로써 식후 혈당을 조절한다[20]. 따라서 다당류가 단당류로 분해되는 것을 저해하는 α-glucosidase 저해제의 개발은 당뇨 및 당질 관련 질병 예방을 위해 중요하다[7]. 본 연구에서는 레몬 머틀 잎 열수 및 80% 에탄올 추출물의 α-glucosidase 저해활성을 제2형 당뇨병 치료제로 시판되고 있는 acarbose를 positive control로 하여 측정하였다. 그 결과, 0.5 mg/ml 농도에서의 acarbose는 41.25%의 저해 활성을 보인 반면, 레몬 머틀 잎 에탄올 추출물에서는 33.74%의 활성을 보였으나 열수 추출물에서는 α-glucosidase 저해활성이 나타나지 않았다(p<0.05). 그러나 1 mg/ml 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서는 각각 7.66%와 40.29%로 에탄올 추출물의 저해활성이 유의적으로 높게 나타났는데(p<0.05) 이는 0.5 mg/ml 농도의 acarbose와 유의적인 차이가 없었다(Table 1). 이와 같은 결과는

Yuk 등[34]의 여주씨 추출물 1 mg/ml 농도에서의 α-glucosidase 저해활성은 50% 에탄올 추출물(62.3%)과 70% 에탄올 추출물(72.7%)이 물 추출물(8.1%)보다 높은 활성을 보인 것과 Nam 등[26]의 산사추출물 1 mg/ml 농도에서의 α-glucosidase 저해활성은 50% 에탄올 추출물(58.87%)과 70% 에탄올 추출물(35.62%)이 물 추출물(14.69%)보다 높은 활성을 보인 결과, Kwon과 Youn [21]의 모링가 잎 추출물 50 mg% 농도에서의 α-glucosidase 저해활성은 에탄올(91.27%)과 메탄올(47.43%) 추출물이 물(12.49%) 추출물보다 높은 활성을 보인 결과 및 Kim 등[13]의 노간주나무 추출물 500 µg/ml 농도에서의 에탄올 추출물(78.14%)이 열수 추출물(48.39%)보다 높은 활성을 보인 연구와 유사한 결과였다. Kwon 등[22]은 0.5 mg/ml 농도의 환류냉각 및 저온고압 쇄비름 추출물의 α-glucosidase 저해활성은 18.23~48.90%로, 급격한 혈당 상승을 예방할 수 있는 기능성 소재로서의 가능성을 보고하였다. 이상에서와 같이 레몬 머틀 잎 에탄올 추출물은 탄수화물 소화 과정에서 α-glucosidase에 의한 포도당 등 단당류의 생성을 저해하여 식후 급격한 혈당 상승을 효과적으로 제어할 수 있는 기능성 소재로서의 개발 가능성이 높은 것으로 사료된다.

Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase (monophenol oxidase)는 L-tyrosine으로부터 3,4-dihydroxyphenolalanine (DOPA)과 DOPA-quinone을 거쳐 흑갈색의 멜라닌 색소 생성에 중요한 역할을 하는 효소로 감자의 갈변현상 뿐만 아니라 피부에 암갈색의 색소를 침착시키는 원인이 된다[12]. 본 연구에서는 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해활성을 kojic acid를 positive control로 하여 측정하였다. 그 결과, 0.1 mg/ml 농도에서의 kojic acid는 62.61%의 저해활성을 보인 반면, 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해활성은 나타나지 않았다. 그러나 1 mg/ml 농도의 에탄올 추출물에서는 19.07%로 나타나 tyrosinase 저해활성이 나타나지 않은 열수 추출물과는 차이가 있었다(Table 2). Han 등[8]의 발아 12일째의 무순 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 메탄올(84.89%) 및 에탄올(66.25%) 추출물이 물 추출물(51.80%)보다 높은 활성을 보인 것과 Kim 등[12]의 새송이버섯 갖과 대 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 활성을 보

Table 1. Inhibitory effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts on α-glucosidase activities

Extracts	Concentration (mg/ml)				
	0.05	0.1	0.5	1	Acarbose ¹⁾
Hot water	ND ²⁾	ND	ND	7.66±2.52 ^{3)d4)}	41.25±1.30 ^a
Ethanol	19.97±3.01 ^c	29.40±3.03 ^b	33.74±1.44 ^b	40.29±1.67 ^a	

¹⁾Acarbose (0.5 mg/ml) is used as positive control.
²⁾Not detected.
³⁾Results are mean ± SD of triplicate data.
⁴⁾Different letters (a-d) within a total sample differ significantly (p<0.05).

Table 2. Tyrosinase inhibitory activities of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts

Extracts	Concentration (mg/ml)				
	0.1	0.5	1	5	Kojic acid ¹⁾
Hot water	ND ²⁾	ND	ND	ND	62.61±0.65 ³⁾
Ethanol	ND	4.01±1.01 ^{3)d4)}	19.07±0.20 ^c	38.26±0.47 ^b	

¹⁾Kojic acid (0.1 mg/ml) is used as positive control.
²⁾Not detected.
³⁾Results are mean ± SD of triplicate data.
⁴⁾Different letters (a-d) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

인 연구와 유사한 결과였다. 한편, Ko 등[17]은 500 µg/ml 농도의 비타민 나무 열매 추출물의 tyrosinase 저해활성은 73.4%로 보고하였고, Ahn 등[1]은 100 mg/l의 비쭈기 나무 추출물의 tyrosinase 저해활성을 kojic acid를 양성대조군으로 측정한 결과 각각 33.6%와 60.8%로 보고하였다.

Alcohol 분해활성(ADH, ALDH)

레몬 머틀 열수 및 에탄올 추출물의 숙취 해소능을 알아보기 위해서 체내 알코올 대사의 1차 효소인 ADH 활성을 알코올 분해와 숙취에 효과가 있는 것으로 보고된 hepos를 positive control로 하여 측정한 결과, 각각의 추출물은 농도 의존적으로 증가하였다($p < 0.05$)(Fig. 1). 1 mg/ml 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서의 ADH 활성은 각각 154.40%와 192.03%로 에탄올 추출물에서는 hepos (170.38%)보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). ADH 활성화는 혈중 알코올 농도를 빠르게 감소시킬 수는 있지만, 체내 흡수된 알코올이 분해될 때 생성되는 acetaldehyde는 간이나 혈액에 잔존하여 두통, 메스꺼움 등의 심한 숙취를 유발할 수 있다[14]. 따라서 레몬 머틀 열 추출물이 acetaldehyde 분해에 미치는 영향을 알아보기로 ALDH 활성을 측정된 결과, 각각의 추출물은 농도 의존적으로 증가하였다($p < 0.05$) (Fig. 2). 1 mg/ml 농도의 열수 및 에탄

올 추출물에서의 ALDH 활성은 각각 151.14%와 192.34%로 에탄올 추출물에서 hepos (169.66%)보다 유의적으로 높게 나타났다($p < 0.05$). 알코올 섭취 시 체내에 흡수되어 전신에 분포되며, 대부분 간에서 알코올 산화계(microsomal ethanol oxidizing system)와 ADH, ALDH, peroxidase 및 catalase 등의 효소에 의해 대사되고, 흡수된 알코올 중 10% 미만은 대사되지 않은 채 폐나 신장으로 배설된다[14]. 알코올에 의한 조직 손상의 원인으로는 에탄올 자체, acetaldehyde의 독성, 에탄올 산화과정에 따른 세포 내 NADH/NAD⁺ 증가에 의한 대사 불균형 및 활성산소 증가 등이 관여한다고 알려져 있다[25]. 최근에는 음주로 인한 숙취감소 및 제거를 위한 의약품이 개발되고 있으나 부작용 및 독성으로 인해 보다 안전한 천연물 유래 식품 개발에 관심이 모아지고 있다[23]. 천연물 유래 알코올 분해 효소에 관한 연구는 헛개나무 추출물[16, 24, 27], 콩나물 당 침지액[14], 약용식물 추출물과 적정 조성 추출물[23] 및 발효 다시마의 알코올 분해 활성[3] 등이 있다. 레몬 머틀 열 추출물에 대한 알코올 분해 활성을 측정된 연구는 거의 없는 실정으로, 실험에 사용한 오스트레일리아산 레몬 머틀 열 추출물은 높은 DPPH 라디칼 소거능과 SOD 활성을 나타내기에[15] 알코올 섭취로 증가된 활성산소를 감소시킬 뿐만 아니라 높은 ADH와 ALDH 활성을 가지므로 효과적으로 혈중

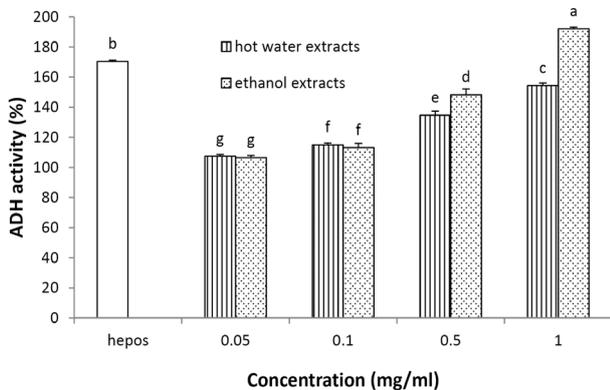


Fig. 1. Effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts on the alcohol dehydrogenase (ADH). Results are mean ± S.D. of triplicate data. Hepos (50%) is used as positive control. Different letters (a-g) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

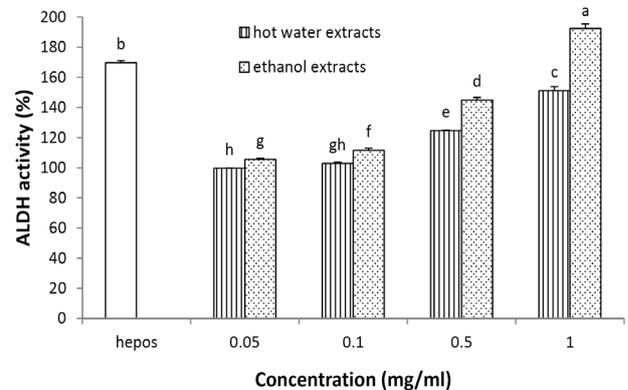


Fig. 2. Effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH). Results are mean ± S.D. of triplicate data. Hepos (50%) is used as positive control. Different letters (a-h) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

알코올을 제거하는 것으로 생각된다. 따라서 레몬 머틀 잎 추출물은 알코올의 독성으로부터 간 조직 보호 및 숙취 해소를 위한 기능성 소재로서의 충분한 가치가 있는 것으로 판단된다.

Cell viability 및 간세포 보호효과

간암 세포인 Hep G2 세포주를 이용하여 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 세포독성실험을 수행한 결과(Fig. 3A), 100 µl/ml 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 대조군과 유사한 생존율을 보였다. 따라서 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 간세포 보호효과를 *in vitro* assay로 확인하기 위하여 tacrine으로 독성을 유발한 간암 세포 유래의 Hep G2 세포주를 이용하여 세포생존율을 관찰하여 Hep G2에 미치는 독성 및 간보호 효과를 확인하였다. 그 결과(Fig. 3B), tacrine만을 처리하였을 때의 세포생존율은 44.39%였으나 10 µl/ml 농도의 열수 및 에탄올 추출물과 tacrine을 함께 처리하였을 때의 세포생존율은 각각 75.91%와 72.02%로 tacrine만을 처리했을 때보다 세포의 성장이 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 최근 레몬

머틀이 갖는 잠재적인 우수한 산업적, 경제적 가치[10]에 대한 관심이 증가하면서 다양한 분야로의 제품개발이 확대되어 가고 있는 추세이지만 지금까지 레몬 머틀 잎의 간 보호효과와 관련된 연구가 문헌상 보고된 바가 없기에 본 연구와의 직접 비교는 어렵다. 그러나 본 연구결과 레몬 머틀 잎 추출물은 독성으로 유발된 간세포 손상에 대한 보호효과가 있는 것으로 나타났기에 천연물을 활용한 기능성 식품 소재로서 활용도가 높을 것으로 판단된다.

References

- Ahn, J. J., Hwang, T. Y. and Kim, H. S. 2015. Study on the physiological activities of *Cleyera japonica* extract. *Kor. J. Plant Res.* **28**, 153-157.
- Byun, E., Jeong, G. S., An, R. B., Li, B., Lee, D. S., Ko, E. K., Yoon, K. H. and Kim, Y. C. 2007. Hepatoprotective compound of cassiae semen on tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**, 400-402.
- Cha, J. Y., Jeong, J. J., Yang, H. J., Lee, B. J. and Cho, Y. S. 2011. Effect of fermented sea tangle on the alcohol dehydrogenase and acetaldehyde in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* **21**, 791-795.
- Cheon, J. H. 2015. Effects of *Backhousia citriodora* extracts on antioxidant activity and bone formation. Th.M. dissertation, Silla University, Busan, Korea.
- Cho, E. K., Jung, K. I. and Choi, Y. J. 2015. Anti-diabetic, Alcohol Metabolizing Enzyme, and Hepatoprotective Activity of *Acer tegmentosum Maxim* stem extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **44**, 1785-1792.
- Choi, J. T., Joo, H. K. and Lee, S. K. 1995. The effect of *Schizandrae fructus* extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. *Agri. Chem. Biotechnol.* **38**, 278-282.
- Choi, Y. J. and Jung, K. I. 2016. Anti-diabetic, alcohol metabolizing enzyme, and hepatoprotective activities of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 819-827.
- Han, J. H., Moon, H. K., Chung, S. K. and Kang, W. W. 2015. Comparison of physiological activities of radish bud (*Raphanus sativus* L.) according to extraction solvent and sprouting period. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **44**, 549-556.
- Hayes, A. J. and Markovic, B. 2002. Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity. *Food Chem. Toxicol.* **40**, 535-543.
- Hazzys, A. J. and Markovic, B. 2003. Toxicity of australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 2. Absorption and histopathology following application to human skin. *Food Chem. Toxicol.* **41**, 1409-1416.
- Kee, J. Y., Kim, M. O., You, I. Y., Chai, J. Y., Hong, E. S., An, S. C., Kim, H., Park, S. M., Youn, S. J. and Chae, H. B. 2003. Effects of genetic polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes on alcohol drinking behaviors. *Kor. J. Hepatology* **9**, 89-97.

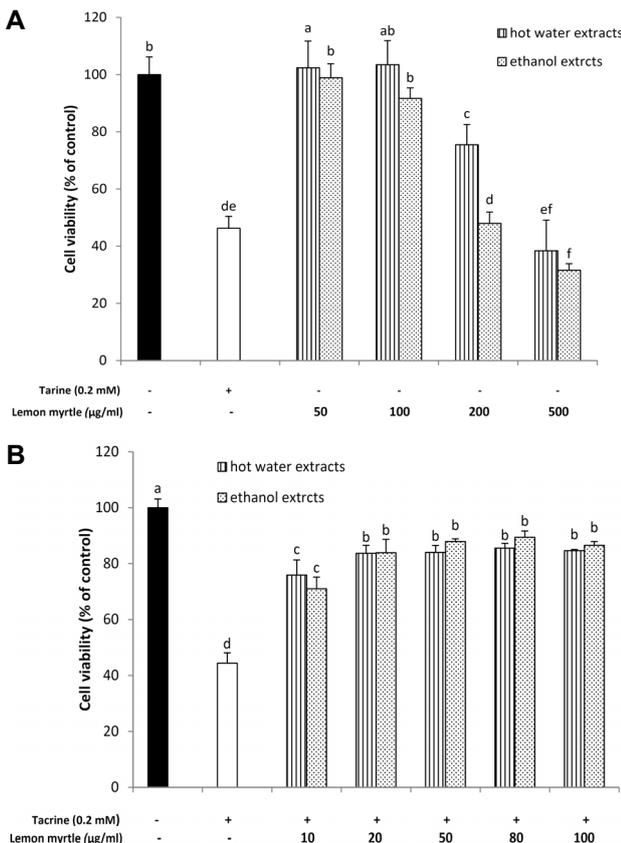


Fig. 3. Hepatoprotective effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts against tacrine-induced cytotoxicity in Hep G2 cells (A, B). Cytotoxicity was assessed after 2 hr with 0.15 mM of tacrine in RPMI medium. Results are mean ± S.D. of triplicate data. Different letters (a-f) within a total sample differ significantly ($p < 0.05$).

12. Kim, H. K., Han, H. S., Lee, G. D. and Kim, K. H. 2005. Physiological activities of fresh *Pleurotus eryngii* extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 439-445.
13. Kim, J. H., Lee, S. Y., Park, J. M., Park, J. H., Kwon, O. J. and Lee, J. Y. 2014. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Juniperus rigida* sieb extracts. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 396-403.
14. Kim, K. M., Jung, H. J., Sung, H. M., Wee, J. H., Kim, T. Y. and Kim, K. M. 2014. Study of the antioxidant and alcohol-degrading enzyme activities of soybean sprout sugar solutions. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **46**, 581-587.
15. Kim, P. K., Jung, K. I., Choi, Y. J. and Gal, S. W. 2017. Anti-inflammatory effects of lemon myrtle (*Backhousia citriodora*) leaf extracts in LPS-induced RAW 264.7 Cells. *J. Life Sci.* **27**, 986-993.
16. Kim, S. M., Kang, S. H., Ma, J. Y. and Kim, J. H. 2006. A study on the extraction and efficacy of bioactive compound from *Hovenia dulcis*. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **21**, 11-15.
17. Ko, M. S., Lee, H. J. and Kang M. J. 2012. Antioxidant activities and whitening effects of extracts from *Hippolhae rhamnoides* L.. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **22**, 812-817.
18. Koivula, T. and Koivusalo, M. 1975. Different from of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim. Biophys. Acta.* **397**, 9-23.
19. Konczak, I., Zabarar, D., Dunstan, M. and Aguas, P. 2010. Antioxidant capacity and phenolic compounds in commercially grown native Australian herbs and spices. *Food Chem.* **122**, 260-266.
20. Kuk, J. H., Ma, S. J. and Park, K. H. 1997. Isolation and characterization of benzoic acid with antimicrobial activity from needle of *Pinus densflora*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 204-210.
21. Kwon, Y. R. and Youn, K. S. 2014. Antioxidant activity and physiological properties of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves extracts with different solvents. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 831-837.
22. Kwon, Y. R., Cho, S. M., Hwang, S. P., Kwon, G. M., Kim, J. W. and Youn, K. S. 2014. Antioxidant, physiological activities, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Portulaca oleracea* extracts with different extraction methods. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **43**, 389-396.
23. Lee, K. S., Kim, G. H., Seong, B. J., Kim, H. H., Kim, M. Y. and Kim, M. R. 2009. Effects of aqueous medicinal herb extracts and aqueous fermented extracts on alcohol-metabolizing enzyme activities. *Kor. J. Food Preserv.* **16**, 259-265.
24. Lee, M. K., Kim, Y. G., An, S. W., Kim, M. H., Lee, J. H. and Lee, H. Y. 1999. Biological activity of *Hovenia dulcis* thumb. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **7**, 185-192.
25. Lieber, C. S. 1991. Perspectives: do alcohol calories count? *Am. J. Clin. Nutr.* **54**, 976-982.
26. Nam, S. M., Kang, I. J. and Shin, M. H. 2015. Anti-diabetic and anti-oxidative activities of extracts from *Crataegus pinnatifida*. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* **25**, 270-277.
27. Park, E. M., Ye, E. J., Kim, S. J., Choi, H. I. and Bae, M. J. 2006. Eliminatory effect of health drink containing *Hovenia dulcis* thumb extract on ethanol-induced hangover in rats. *Kor. J. Food Cult.* **21**, 71-75.
28. Racker, E. 1955. Alcohol dehydrogenase from bakers yeast. **1**, 500-506.
29. Saito, Y., Ito, S., Koltunow, A. M. and Sakai, H. 2011. Crystallization and preliminary X-ray analysis of geraniol dehydrogenase from *Backhousia citriodora* (lemon myrtle). *Acta. Cryst.* **67**, 665-667.
30. Watanabe, J., Kawabata, J., Kurihara, H. and Niki, R. 1997. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from Tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61**, 177-178.
31. Watkins, P. B., Zimmermann, H. J., Knapp, M. J., Gracon, S. I. and Lewis, K. W. 1994. Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease. *J. Am. Med. Assoc.* **271**, 992-998.
32. Wilkinson, J. M., Hipwell, M., Ryan, T. and Cavanagh, H. M. A. 2003. Bioactivity of *Backhousia citriodora*: antibacterial and antifungal activity. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 76-81.
33. Yagi, A., Kanbara, T. and Mirubiby, N. 1987. Inhibition of mushroom tyrosinase by aloe extract. *Planta. Medica.* **53**, 517-519.
34. Yuk, H. J., Noh, G. M., Choe, J. S., Kwon, O. K., Hong, S. Y., Kang, S. S., Cho, K. M. and Park, D. S. 2015. α -glucosidase inhibitory effect of vicine and α -eleostearic acid from the seeds of *Momordica charantia*. *Kor. J. Environ. Agric.* **34**, 57-63.

초록 : 레몬 머틀 잎 추출물의 Hep G2 세포에서의 간 보호 효과 및 알코올대사 효소활성

정경임¹ · 김판길^{2,3} · 갈상원² · 최영주^{1*}

(¹신라대학교 식품영양학과, ²경남과학기술대학교 제약공학과, ³김해대학교 임상병리과)

본 연구에서는 레몬 머틀 잎 열수 및 에탄올 추출물의 새로운 소재로서의 가능성을 검토하고자 항당뇨 효과와 미백 효과, 알코올 분해능 및 간세포 보호 효과를 확인하였다. 레몬 머틀 추출물의 혈당강하효과는 α -glucosidase 활성 억제능을 측정하였으며, 열수 및 에탄올 추출물 1 mg/ml 농도에서 각각 7.66%와 40.29%로 에탄올 추출물이 높게 나타났고($p < 0.05$), tyrosinase 저해활성은 에탄올 추출물 1 mg/ml 농도에서 38.26%로 나타났다. 숙취 해소능을 알아보기 위해 alcohol dehydrogenase (ADH) 및 acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성을 측정한 결과, 두 효소 모두 레몬 머틀 열수 및 에탄올 추출물의 농도 의존적으로 증가하였다($p < 0.05$). 레몬 머틀 열수 및 에탄올 추출물은 tacrine으로 유도된 Hep G2 간암 세포주에 대하여 유의적인 보호 활성이 나타났다. 이상의 결과에서와 같이 레몬 머틀 잎은 항당뇨효과와 숙취 해소효과 및 간세포 보호 효과가 있는 것으로 나타났기에 기능성 소재로서의 활용 가능성을 확인할 수 있었다.