털부처꽃 뿌리 추출물의 단회투여가 급성 알코올 투여 흰쥐의 간기능에 미치는 영향

이승은[†] · 이정훈 · 김금숙 · 홍윤표 · 노형준 · 박춘근 · 김승유

농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Effect of Root Extract of *Lythrum salicaria* L. on Liver Function of Rat Acutely Administrated with Alcohol

Seung Eun Lee[†], Jeong Hoon Lee, Geum Soog Kim, Yoon Pyo Hong, Hyung Jun Noh, Chun Geun Park and Seung Yu Kim

Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumsung 369-873, Korea.

ABSTRACT : This experiment was conducted to verify whether one time feeding of *Lythrum salicaria* root crude extract (LSR extract) exhibits liver protecting activities in acutely ethanol administrated rat. Experiment groups were composed of normal, negative control (alcohol control), 2 positive control (*Hovenia dulcis* extract 900 mg/kg and milk thistle 100 mg/kg), betulinic acid (20 mg/kg), a compound separated from LSR, and 3 LSR (100, 300, 900 mg/kg) groups. LSR treated groups showed decrease ($p < 0.05$) in serum triglyceride by dose-dependent manner. The content of serum albumin and the activity of ADH and ALDH in LSR extract fed rats were increased ($p < 0.05$) dependently on the administration amounts. Our study indicated that one time supplement of LSR downregulates oxidative stress and shows liver protective activity in the acute alcohol-fed rats.

Key Words : *Lythrum salicaria*, Alcohol, Liver Damage

서 언

근래에 알콜에 의한 여러 가지 건강 및 사회적 문제가 언론을 통해 알려지고 있는 데, WHO에 따르면 매년 250만명의 사망이 유해한 알코올의 사용 때문에 발생하며, 젊은 연령층(15~19세) 32만명이 알코올과 관련된 이유로 사망하고, 이는 같은 연령층 사망의 9%에 해당한다고 한다. 또한, 대한보건협회가 인용한 자료에 의하면 우리나라에서는 지난 20년전보다 알코올성 간질환에 의한 사망률이 6.8배 증가한 것으로 나타나 알코올섭취로 인한 위해가 심각한 수준임을 알 수 있다.

알코올섭취가 간 건강과 관련된 이유는 생체가 섭취한 알코올을 alcohol dehydrogenase (ADH), catalase 등의 효소가 작용하여 acetaldehyde가 생성되는 데 이 물질이 무독화되지 못할 때 대사이상과 관련되거나 숙취의 원인물질 (Vidal *et al.*, 1998; Wiese *et al.*, 2000)로 작용하기 때문이며, 알코올로부터 microsomal ethanol oxidation system (MEOS), aldehyde oxidase, xanthine oxidase 등의 효소작용으로 생긴 활성산소가

glutathione 등 항산화물질의 감소를 야기하고 지질과산화물질을 증가 (Coudray *et al.*, 1993; Guerri *et al.*, 1994)시키기 때문이다. 이러한 알코올의 유해작용을 완화하기 위해 근래에 들어 숙취해소 음료 등 기능성 식음료의 소비가 늘어나고, 천연물로부터 간 건강과 관련된 기능성 원료의 개발이 계속되고 있다.

저자들은 수년간 식물자원의 기능성을 검색하여 유망자원을 발굴하고자 실험을 수행하였으며, 털부처꽃이 항산화 및 간기능 개선의 잠재효과를 가지는 것을 확인하고 이에 대한 연구 결과들을 발표하였다. 그 결과에는 털부처꽃에 대한 간섬유화 저해효과 (Lee *et al.*, 2009a, b), 뿌리 분획물의 생리활성 및 채취시기 · 채취부위별 생리활성 (Lee *et al.*, 2010a, b), 생체에서 만성 알코올 투여 시 효과를 나타내는 털부처꽃의 식물부위에 관한 것 (Lee *et al.*, 2011)이 포함되어 있다.

부처꽃과 (Lythraceae)에 속하는 다년생 초본인 털부처꽃 (*Lythrum salicaria* L.)은 세계적으로 고루 분포하고 있으며, 우리나라에서는 약용 혹은 구황식품 재료로 사용되어 온 식물 (Lee, 1996; Kim and Lee, 1992)로 털부처꽃의 식물부위는

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5586 (E-mail) lse1003@korea.kr

Received 2012 September 7 / 1st Revised 2012 September 17 / 2nd Revised 2012 September 27 / Accepted 2012 October 4

높은 페놀함량을 나타내며 항미생물 화합물이 포함 (Becker *et al.*, 2005)되어 있고 Lythrine A~D 등의 tannin이 함유 (Ma *et al.*, 1996)되어 있다. 털부처꽃의 생리활성으로 항산화, 항염증 및 항통증 효과(Coban *et al.*, 2003; Tunalier *et al.*, 2007), 항미생물 효과 및 antilisterial activity (Rauha *et al.*, 2000; Altanlar *et al.*, 2006), 종자의 항산화효과 (Humadi and Istudor, 2009; Borchardt *et al.*, 2009) 및 꽃 부위의 anticoagulant effect (Pawlaczyk *et al.*, 2011)가 보고되어 있다.

본 연구에서는 선행연구에서 장기간 알코올 투여했을 경우 간장 보호효과를 나타내는 것으로 확인된 털부처꽃 뿌리 추출물 (Lee *et al.*, 2011)에 대하여 단회 투여만으로도 급성 알코올 투여한 흰쥐에서 간을 보호하는 지를 확인하고, 기능성 음료 등으로의 활용이 가능한 지를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

털부처꽃 (*Lythrum salicaria* L.)의 뿌리를 실험에 이용하기 위해서 2010년 3월 농촌진흥청 인삼특작부 시험포장에 자원을 증식한 후 9월에 채취하여 시료로 이용하였다. 종의 동정은 동일기관 식물분류전문가에게 확인받았으며, 동정방법은 대한식물도감 (Lee, 1980), 원색한국기준식물도감 (Lee, 1996), 새로운 한국식물도감 (Lee, 2006) 등을 활용하였다. 채집된 식물은 중 기원확인용 확증표본을 위해 석엽표본으로 제작한 후 한국약용자원표본관 (KMRH)에 보관하여 자원에 대한 바우처 번호를 부여받았다 (Voucher Number: MPS002923, MPS002924).

2. 추출물시료 조제

수집된 털부처꽃 뿌리는 세척, 건조시켰다. 건조한 시료를 분쇄하여 분말로 만든 후 환류추출장치를 이용해 85°C에서 50% 에탄올로 추출하였고 추출액에 포함된 용매는 감압농축 및 동결건조로 제거한 후 동물실험에 사용하였다. 양성대조물질로 사용된 헛개 추출물과 밀크씨슬은 각각 (주)생명의 나무와 (주)렉스진바이오텍으로부터 제공받았으며 betulinic acid는 Aldrich (Cat #855057, 90%, USA)에서 구입하여 사용하였다.

3. 시약 및 기기

혈청 중 성분 분석에는 Asan Pharmaceutical kit (알부민, AM-127; TG, AM 157S-K; HDL-cholesterol, AM 203-K; total cholesterol, AM-202K; Hwaseong-Si, Korea)를 사용하였고 NAD (Sigma N1511, 99%, St Louis, USA), 4-methyl pyrazole (Sigma N1387, 95%, St Louis, USA), rotenone (Sigma R8875, 95%, St Louis, USA), semicarbazide, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid, Sigma D8130, 98%, St Louis, USA) 등의 시약은 Sigma Co. (USA)의 것을, 그 외의 시약들

은 특급을 사용하였다. 털부처꽃 뿌리 추출물의 농축에는 rotary evaporator (JP-SD1000, Eyela, Tokyo Rikikatai, Japan)를 사용하였고, 조직분석액 조제 및 혈청 분리에는 원심분리기 (VS-550 & VS35SMTi, Vision Science, Bucheon city, Korea) 및 homogenizer (Sonics VCX500, Sonics & Materials, Newtown, USA)를 사용하였으며 흡광도 측정은 spectro-photometer (Cary300, Varian, Melbourne, Australia)를 사용하였다.

4. 실험동물 및 동물실험 계획

실험에 사용된 동물은 체중 230~260 g의 SD계 웅성 흰쥐로 specific pathogen free (SPF) grade를 (주)대한바이오링크에서 구입하여 1주일간 사육환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험군은 담체만 투여한 정상군, 담체와 알코올을 투여한 실험군 (알코올투여대조군), 담체에 녹인 헛개 추출물 (900 mg/kg)과 알코올을 투여한 실험군 (이하 헛개 추출물 투여군; *Hovenia dulcis* Thunb (H.D)), 담체에 녹인 밀크씨슬 추출물 (100 mg/kg)과 알코올을 투여한 실험군 (이하 밀크씨슬 투여군; milk thistle (MT)), 담체에 녹인 betulinic acid (20 mg/kg)와 알코올을 투여한 실험군 (이하 betulinic acid 투여군 (BA)), 담체에 녹인 털부처꽃 뿌리 추출물 (100 mg/kg, 300 mg/kg, 900 mg/kg)과 알코올을 투여한 실험군 (이하 털부처꽃 뿌리 추출물 100, 300, 900 투여군; root 100, root 300, root 900)으로 한 후 무작위로 배정하였다. 헛개추출물은 단일 화합물이 아닌 조추출물이므로 털부처꽃 뿌리의 가장 높은 투여량과 비교하고자 900 mg/kg을 투여하였고, 밀크씨슬은 유효 성분이 다량 함유되어 있어서 그리고 betulinic acid는 단일 화합물이므로 각각 100 mg/kg 및 20 mg/kg의 낮은 용량으로 투여하였다. 사료는 감마 멸균된 시판사료 (주)대한바이오링크를 사용하였고 물과 함께 자유급식하게 하였으며, 22±2°C의 실온, 12시간의 명암주기로 조절되는 사육실에서 사육하였다. 알코올은 30% ethanol을 20 mL/kg body weight 분량을 부검 하루 전날 1회를 경구투여하고 17시간 후 (부검일) 다시 1회를 경구투여 하였으며 최종 알코올 투여 1시간 후 담체, 대조약물 및 털부처꽃 뿌리 추출물을 투여량에 맞추어 경구투여하고 다시 한 시간 후에 부검 및 채혈하였다.

5. 혈액 처리 및 조직효소액 조제

알코올 및 실험물질을 투여한 실험동물을 에텔 마취하여 체중을 기록한 후 복부대동맥에서 채혈하여 혈액 일부는 알코올 함량 분석에 사용하였으며 나머지 혈액은 냉장온도에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 high density lipoprotein (HDL)-콜레스테롤, albumin, total cholesterol 및 중성지질 함량의 분석에 사용하였다. 적출된 간장조직은 중량을 기록하여 체중에 대한 상대 간장중량을 분석하고, 절편으로 만들어 4배량의 0.1 M potassium

phosphate buffer (pH 7.4)를 가해 얼음 중에서 homogenizer로 마쇄하여 homogenate를 얻어 이 중 일부를 glutathione (GSH) 함량 분석에 사용하였다. 또한, 남은 liver homogenate를 $600 \times g$ 에서 10분간 및 $10,000 \times g$ 에서 20분간 원심분리하는 과정을 거쳐 mitochondria 분획을 얻어 aldehyde dehydrogenase (ALDH) 활성 분석에 사용하고 이때 얻어진 상등액은 $105,000 \times g$ 에서 1시간동안 다시 원심분리하여 cytosol 분획을 얻어 alcohol dehydrogenase (ADH) 분석에 사용하였다.

6. 간장의 알코올분해효소 활성 및 항산화물질의 분석

간장조직 중의 ADH의 활성은 Gergel과 Cederbaum (1996)의 방법에 준해 0.1 ml의 0.2 M ethanol, 0.02 ml의 0.5 M semicarbazide, 0.02 ml의 0.1 M NAD, 2.0 ml의 0.1 M Tris buffer (pH 8.5)를 혼합한 후 30°C에서 10분간 예비 배양하고 효소액 0.1 ml를 가한 후 NADH의 생성을 340 nm에서 1분간 흡광도 변화로 기록하고 NADH의 340 nm에서의 흡광계수 (ϵ_{340})인 $6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 적용하여 Beer-Lambert law에 근거한 아래의 계산식에 따라 결과 (단위: nM NADH/min/mg protein)를 산출하였다.

$$C = [A / (\epsilon \times L)] / \text{효소액의 단백질함량}$$

C: 농도

A: 흡광도 (분당 변화량)

ϵ : 흡광계수

L: 빛이 통과하는 길이

또한, ALDH의 활성 분석에는 Kathryn 등 (1996)의 방법에 따라 2 ml의 1 mM NAD, 0.2 mM 4-methyl pyrazole, 1 mM magnesium chloride가 함유된 50 mM sodium pyrophosphate (pH 8.8) 및 1 ml의 2 μM rotenone을 0.4 ml 효소액과 함께 혼합한 후 30°C의 water bath에서 20분간 배양하고 0.2 ml의 5 mM acetaldehyde를 가하여 340 nm에서의 1분간 흡광도를 측정하였으며 340 nm에서 분당 생성된 NADH의 양을 흡광계수 ($6220 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 적용하여 ADH와 같은 식에 따라 산출하였다.

실험결과 산출에 필요한 단백질의 함량은 bovine serum albumin을 표준물질로 하여 단백질을 정량하고자 하는 시료액과 Brilliant Blue G 250을 포함하는 단백질 시약을 반응시켜 595 nm에서 Bradford (1976)의 방법으로 분석하였다.

간장 조직의 glutathione (GSH) 함량은 Ellman (1959)의 방법에 따라 먼저 total GSH를 4% sulfosalicylic acid로 처리한 liver homogenate를 disulfide reagent 등의 시약과 반응시킨 후 421 nm에서 흡광도 측정하고 glutathione을 표준물질로 한 정량선에 적용하여 분석하였다. 산화형 GSH 즉, GSSG의 함량은 Świergosz-Kowalewska 등 (2006)의 방법에 따라 원심분리한 상등액 1 ml과 1 M 2-vinyl pyridine 20 μl

를 혼합하여 상온에서 60분간 방치한 후 total glutathione 함량분석과 동일하게 실험하여 구하였고, 환원형 GSH는 total GSH에서 GSSG를 배제한 값으로 하였다.

7. 혈액 및 혈청 성분의 분석

혈액 중의 알코올 함량은 Bergmeyer 등 (1974)의 방법에 따라 알코올 (에탄올)이 ADH의 촉매작용에 의해 NAD^+ 와 반응하여 생성되는 NADH의 양을 340 nm에서 측정하여 분석하였으며 결과는 위에 나타낸 ADH 활성분석과 같은 계산식을 적용하여 산출하였다.

혈청 중의 간기능 관련 인자는 아산제약 kit를 사용하여 제조사가 제공한 메뉴얼에 따라 아래와 같이 수행하였다. Albumin은 BCG (bromocresol green) 방법에 근거하여 혈청과 BCG 시약을 반응시킨 후 628 nm에서 흡광도를 측정하고 후 표준물질인 bovine albumin의 흡광도와 비교한 식에 따라 결과를 얻었다. 지방대사 관련 지표인 중성지질 (triglyceride, TG)은 혈청에 lipoprotein lipase를 포함하는 enzyme reagent를 가해 반응시킨 후 550 nm에서 흡광도를 측정하여 glycerin을 표준물질로 하여 정량하였으며, HDL-cholesterol은 혈청을 분리시액과 반응시키고 원심분리한 후 얻어진 상등액을 효소 시액과 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정하고 표준물질의 흡광도와 비교한 계산식에 적용하여 분석하였다. 또한, total cholesterol 분석은 혈청을 cholesterol esterase가 함유된 enzyme reagent와 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도를 측정, 표준물질의 흡광도와 비교한 식에 대입하여 수행하였다.

8. 통계분석

실험 결과는 SAS (statistical analysis systems) program (version 4.3)을 이용하여 $p < 0.05$ 의 수준에서 one way ANOVA test 및 DMRT (Duncan's Multiple Range Test)로 유의성이 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 상대간장 중량 및 혈중 알코올농도 분석 결과

17시간 간격으로 알코올을 2회 투여한 흰쥐에 최종 투여 1시간 후 털부처꽃 뿌리 추출물을 한번 경구투여하고 다시 1시간 후 희생하여 간장중량을 측정, 체중에 대한 상대 간장중량을 산출한 결과 (Fig. 1 (a)), 정상대조군에 비해 알코올대조군에서 유의하게 상대 간장중량이 증가하였으며, 털부처꽃 뿌리 추출물 100 mg/kg 및 300 mg/kg을 투여한 흰쥐에서는 알코올대조군보다도 유의하게 상대중량이 감소한 것을 알 수 있었다. 이것은 양성대조물질로 사용된 헛개 추출물 900 mg/kg을 투여한 실험군이나 밀크씨슬 100 mg/kg을 투여한 실험군과 유사하거나 다소 낮은 수치였으나 털부처꽃 뿌리 900 mg/kg 투여군

Fig. 1. Relative liver weight (a) and ethanol content (b) in the blood from the rats acutely administered with alcohol and *L. salicaria* root extracts. Values are expressed as Mean $\pm$ SD (n = 6). Means with the different letters on the peak are significantly different at $p < 0.05$, by Duncan's multiple range test. Abbreviations used: H.D, extract of *Hovenia dulcis* Thunb; MT, milk thistle; BA, betulinic acid; root 100, root extract 100 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 300, root extract 300 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 900, root extract 900 mg/kg of *Lythrum salicaria*; EtOH, ethanol).

에서는 betulinic acid 20 mg/kg 투여군과 더불어 상대 간장중량이 다소 증가한 것을 알 수 있었다. 체중에 대한 간 중량의 비가 에탄올을 급여한 실험군에서 높았고 항산화제가 투여된 군에서는 감소하였다는 Choi 등 (1991)의 보고를 감안할 때 다량 (900 mg/kg)의 털부처꽃 뿌리 추출물보다는 100 mg/kg 및 300 mg/kg 수준의 투여가 급성 알코올투여 흰쥐에서 간 중량의 증가 완화에 효과적인 것으로 생각되었다.

또한, 각 실험군에 대한 혈중 알코올 농도를 분석하였을 때 털부처꽃 뿌리 100 mg/kg 투여군과 헛개추출물 900 mg/kg 투여군에서 알코올대조군보다 나소 낮은 경향을 나타내었으나 유의적이지는 않았다. 이와 같이 혈중 알코올 농도가 각 실험군 간에 차이를 보이지 않은 것은 추출물 투여 후 (1시간 후)의 채혈시간이 알코올이 분해되기에는 비교적 짧았던 데에 기인하는 것으로 사료되었다 (Fig. 1 (b)).

2. 간장의 알코올분해효소 활성 분석 결과

급성 알코올 투여에 의해 알코올을 분해하는 효소인 ADH 혹은 ALDH의 mRNA level 또는 활성 증가가 보고 (Yoo *et al.*, 2011; Venkataranganna *et al.*, 2008)되어 있으므로, 털부처꽃 뿌리 추출물 1회 투여가 급성 알코올을 투여한 흰쥐 간장의 알코올분해효소활성에 미치는 영향을 알아보았다. 먼저, 각 실험군들의 ADH의 활성을 살펴보면 정상군의 4434 ± 1201 nM NADH/min/mg protein에 비해 알코올투여 대조군은 3388 ± 1219 nM NADH/min/mg protein로 ADH 활성이 감소하였으나 털부처꽃 뿌리 100, 300, 900 추출물 투여군의 ADH 활성은 5394 ± 1318 , 5625 ± 821 및 5883 ± 1734 nM NADH/min/mg protein으로서 모두 유의하게 증가하였고, 이는 알코올투여 대조군의 ADH 활성과 비교할 때 각각 59, 66, 74 % 증가한 것이었다. 이 결과는 양성대조물질인 밀크씨슬 투여군이 나타낸 6529 ± 1391 nM NADH/min/mg protein (알코올투여 대조군 대비 93% 증가)보다는 다소 낮은 것이었으나, 헛개추출물의 ADH 활성 (2876 ± 1182 nM NADH/min/mg protein, 알코올투여 대조군 대비 15% 감소) 보다는 상당히 높은 수치를 보인 결과였다. 한편, betulinic acid 투여군의 ADH 활성은 5883 ± 1734 nM NADH/min/mg protein으로서 알코올투여 대조군 대비 71% 증가하였으나 밀크씨슬 투여군보다는 낮았다.

또한, ADH 또는 catalase에 의해 생성된 acetaldehyde를 acetate로 전환시키는 단계를 촉매하는 효소인 ALDH (특히, 사람의 hepatic ALDH)는 acetaldehyde의 농도와 관련하여 high K_m type인 cytosolic ALDH에 비해 low K_m type의 mitochondrial ALDH가 ethanol로부터 생성된 acetaldehyde의 대부분을 제거 (Vidal *et al.*, 1998)하므로 mitochondrial ALDH를 분석하였다. 그 결과, ALDH 활성은 정상군 (1705 ± 916 nM NADH/min/mg protein)보다 알코올투여군에서 3956 ± 618 nM NADH/min/mg protein로 증가하였으며 털부처꽃 뿌리 추출물 100, 300, 900 투여군은 각각 4442 ± 995 및 4743 ± 612 nM NADH/min/mg protein로서 털부처꽃 뿌리 추출물 100 투여군은 알코올투여 대조군보다 다소 낮은 활성을 보였으나 300, 900 투여군은 알코올투여 대조군보다 유의하게 활성이 증가 (알코올투여 대조군 대비 12%, 20% 증가)하였다. 한편, 2492 ± 1783 nM NADH/min/mg protein의 ALDH 활성을 나타낸 헛개 추출물이나 2912 ± 899 nM NADH/min/mg protein의 ALDH 활성을 나타낸 betulinic acid 투여군은 털부처꽃 뿌리 추출물 투여군들보다도 낮은 활성 (알코올투여대조군 대비 -37% 및 -26%)을 나타내었고, 밀크씨슬 투여군도 4034 ± 1310 nM NADH/min/mg protein의 ALDH 활성을 나타내 미미한 정도의 증가 (알코올투여 대조군 대비 2%)를 보여 투여량에 따라 활성에 다소 차이가 있으나 털부처꽃 뿌리 추출물 투여가 효과적으로 알코올 분해작용을 나타낸 것으로 확인되었다 (Table 1).

Table 1. Hepatic ADH and ALDH activities of the acutely treated rats with alcohol and *L. salicaria* root extracts.

Groups	ADH (nM NADH/min/mg protein)	ADH Increase (%) compared with alcohol group	ALDH (nM NADH/min/mg protein)	ALDH Increase (%) compared with alcohol group
Normal	4434 ± 1201 ^{bc}	31	1705 ± 9168 ^{*d**}	-57
Alcohol	3388 ± 1219 ^c	0	3956 ± 618 ^{ab}	0
H.D + alcohol	2876 ± 1182 ^c	-15	2492 ± 1783 ^{cd}	-37
MT + alcohol	6529 ± 1391 ^a	93	4034 ± 1310 ^{ab}	2
BA + alcohol	5779 ± 1574 ^{ab}	71	2912 ± 899 ^{bcd}	-26
root 100 + alcohol	5394 ± 1318 ^{ab}	59	3652 ± 1457 ^{abc}	-8
root 300 + alcohol	5625 ± 821 ^{ab}	66	4442 ± 995 ^a	12
root 900 + alcohol	5883 ± 1734 ^{ab}	74	4743 ± 612 ^a	20

*Values are expressed as Mean ± SD (n = 6).

**Means with the different letters on the peak are significantly different at p < 0.05, by Duncan's multiple range test. Abbreviations used: H.D, extract of *Hovenia dulcis* Thunb; MT, milk thistle; BA, betulinic acid; root 100, root extract 100 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 300, root extract 300 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 900, root extract 900 mg/kg of *Lythrum salicaria*; EtOH, ethanol.

Table 2. Composition of hepatic glutathione from the acutely treated rats with alcohol and *L. salicaria* root extracts.

Groups	Reduced GSH/total GSH	GSSG/total GSH	Reduced GSH/GSSG
Normal	-0.03 ± 0.04 ^d	1.03 ± 0.04 ^a	-0.032 ± 0.033 ^{*c**}
Alcohol	0.01 ± 0.02 ^c	0.99 ± 0.02 ^b	0.013 ± 0.021 ^b
H.D + alcohol	0.02 ± 0.03 ^{bc}	0.98 ± 0.03 ^{bc}	0.019 ± 0.035 ^{ab}
MT + alcohol	0.02 ± 0.02 ^{bc}	0.98 ± 0.02 ^{bc}	0.022 ± 0.020 ^{ab}
BA + alcohol	0.02 ± 0.03 ^{bc}	0.98 ± 0.03 ^{bc}	0.021 ± 0.027 ^{ab}
root 100 + alcohol	0.05 ± 0.02 ^a	0.94 ± 0.02 ^d	0.052 ± 0.011 ^a
root 300 + alcohol	0.05 ± 0.02 ^{ab}	0.95 ± 0.02 ^{cd}	0.043 ± 0.018 ^{ab}
root 900 + alcohol	0.05 ± 0.03 ^{ab}	0.95 ± 0.03 ^{cd}	0.051 ± 0.028 ^a

*Values are expressed as Mean ± SD (n = 6).

**Means with the different letters on the peak are significantly different at p < 0.05, by Duncan's multiple range test. Abbreviations used: H.D, extract of *Hovenia dulcis* Thunb; MT, milk thistle; BA, betulinic acid; root 100, root extract 100 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 300, root extract 300 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 900, root extract 900 mg/kg of *Lythrum salicaria*; EtOH, ethanol; GSH, glutathione; GSSG, oxidized glutathione.

3. 간장의 glutathione 함량 분석 결과

에탄올 투여는 간에 존재하는 항산화관련 효소 뿐 만 아니라 glutathione 특히, 환원형 glutathione (reduced form of GSH)의 감소를 일으키는데 (Pandanaoboina *et al.*, 2012), 이는 GSH가 아세트알데히드와 같은 aldehyde와 adduct를 생성하고 다가불포화지방산의 분해로 생기는 4-hydroxy nonenal과 반응하여 지질과산화물을 확산시키므로 GSH의 감소는 free radicals에 대한 GSH의 직접적인 소거효과 때문으로 알려져 있다 (Nordmann *et al.*, 1990). 본 실험에서는 알코올을 2회 투여한 흰쥐에 털부처꽃 뿌리 추출물을 비롯한 시료를 1회 투여한 후 흰쥐 간장에서 total GSH에 대한 환원형 GSH의 비 그리고 total GSH에 대한 산화형 GSH (= GSSG)의 비를 분석하였다 (Table 2). 먼저, 환원형 GSH의 total GSH에 대한 비를 분석해 본 결과, 알코올투여 대조군이 0.01인 데 비해 털부처꽃 뿌리 추출물 투여군들은 모두 0.05 수준으로 유의하게 높은 수치를 보였으며, 이는 대조물질인 헛개추출물이나 밀크씨슬 그리고 BA를 투여한 실험군들 (0.02 수준) 보다도 높

았다. 한편, 생체에서 항산화작용에 사용된 환원형 GSH은 산화형으로 전환되므로 total GSH에 대한 GSSG의 비를 분석한 결과 털부처꽃 뿌리 추출물 투여군 (0.94 ~ 0.95)이 알코올투여 대조군 (0.99)에 비해 유의하게 낮은 수치를 나타내었고, 이는 밀크씨슬, 헛개추출물 및 betulinic acid를 투여한 실험군 (0.98 수준)에 비해서도 낮았다. 또한, Schlorff 등 (1999)에 의하면 혈청에서의 GSSG에 대한 환원형 GSH의 비는 알코올로 유도된 산화적 스트레스에서 중요한 지표의 하나로서 알코올섭취 후 1.5 ~ 6시간 후 감소한다고 보고하였는데, 본 연구에서는 혈청이 아닌 간장조직에서의 결과를 살펴보았을 때, 털부처꽃 뿌리 추출물 100, 300, 900 투여군은 비교된 양성대조군들보다도 높거나 같은 수준을 유지하고 있어 단회 투여된 털부처꽃 뿌리 추출물이 급성 알코올에 의한 산화적 스트레스를 효과적으로 완화시키는 것을 알 수 있었다.

4. 혈청 중 지질성분 및 알부민 함량분석 결과

급성 알코올을 투여한 흰쥐에 시료 추출물을 1회 투여하였

Fig. 2. Triglyceride (TG, a), total cholesterol (b) and HDL-cholesterol content (c) of the serum from the rats acutely administered with alcohol and *L. salicaria* root extracts. Values are expressed as Mean $\pm$ SD (n = 6). Means with the different letters on the peak are significantly different at $p < 0.05$, by Duncan's multiple range test. Abbreviations used: H.D, extract of *Hovenia dulcis* Thunb; MT, milk thistle; BA, betulinic acid; root 100, root extract 100 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 300, root extract 300 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 900, root extract 900 mg/kg of *Lythrum salicaria*; EtOH, ethanol.

을 때 혈청 중 지질성분을 분석하였으며, 그 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 먼저, 중성지질 함량은 정상군과 알코올투여 대조군이 비슷한 수준을 보여 가장 높았으나, 털부처꽃 뿌리 추출물 투여군들은 투여량에 비례하여 중성지질이 감소하는 경향을 나타내었으며, 특히 털부처꽃 뿌리 추출물 300 및 900 투

Fig. 3. Serum albumin content of the rats acutely administered with alcohol and *L. salicaria* root extracts. Values are expressed as Mean $\pm$ SD (n = 6). Means with the different letters on the peak are significantly different at $p < 0.05$, by Duncan's multiple range test. Abbreviations used: H.D, extract of *Hovenia dulcis* Thunb; MT, milk thistle; BA, betulinic acid; root 100, root extract 100 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 300, root extract 300 mg/kg of *Lythrum salicaria*; root 900, root extract 900 mg/kg of *Lythrum salicaria*; EtOH, ethanol.

여군은 헛개 추출물 투여군, 밀크씨슬 투여군 및 BA 투여군 보다는 낮은 수치를 보였다 (Fig. 2 (a)).

총콜레스테롤 함량에서는 알코올을 투여한 실험군들에서 정상군보다 모두 낮은 수치를 보였으나, 털부처꽃 뿌리 추출물 100 투여군과 헛개추출물 투여군이 알코올 투여대조군에 비해 유의하게 낮은 수치를 나타내었다. 알코올을 투여한 실험군들 중에서는 알코올투여 대조군, 밀크씨슬 투여군, 털부처꽃 뿌리 300, 900 투여군이 비슷한 수준을 나타내었으며, BA 투여군이 가장 높았다 (Fig. 2 (b)).

또한, HDL-콜레스테롤 함량에서는 털부처꽃 뿌리 추출물 100, 300, 900 투여군과 더불어 정상군, BA 투여군에서 유의하게 높은 수치를 나타내었으나, 알코올투여 대조군, 헛개추출물 투여군 및 밀크씨슬 투여군은 낮았다 (Fig. 2 (c)).

이러한 결과를 고려할 때, 털부처꽃 뿌리 추출물은 투여량에 따라 다소 차이는 있으나 1회 투여만으로도 급성 알코올 투여로 나빠질 수 있는 혈중 지질성분 조성을 개선시키는 효과가 있는 것으로 사료되었다.

급성 알코올 투여를 한 실험동물의 간기능에 대한 시료의 영향을 알아보기 위해 혈청 중의 알부민 함량을 분석하였다. Fig. 3에 나타낸 바와 같이 알코올투여 대조군은 정상군에 비해 혈청 알부민 함량이 다소 감소하였으며, 털부처꽃 뿌리 추출물 300, 900 투여군은 알코올투여 대조군에 비해 높은 혈청 알부민 함량을 보였으나 털부처꽃 뿌리 추출물 100 투여군은 가장 낮은 함량을 나타내었다. 또한, 털부처꽃 뿌리 추출물 300, 900 투여군은 밀크씨슬 투여군과 비슷하거나 다소 높은 혈청 알부민 수준을 유지하였고, 헛개추출물 및 BA 투여군보다는 월등히 높은 함량을 보였다.

이상과 같이 여러 가지 간기능 관련 지표에 대해 실험한 결과를 종합하면 털부처꽃 뿌리 추출물은 1회 투여만으로도 급성 알코올 투여로 나타나는 혈청 알부민과 항산화물질의 함량 감소를 완화시키고, 혈중 지질성분 조성을 개선시키며, 알코올 분해효소인 ADH와 ALDH의 활성을 증가시킴으로서 알코올로 인한 간 손상을 완화시켜 주는 데 효과를 나타내는 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 시험연구사업 (PJ006605012011)의 연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다. 또한, 실험재료로 헛개추출물 및 밀크씨슬을 무상으로 공급하여 주신 (주)생명의 나무 나천수대표님과 (주)렉스진바이오텍 생명과학 연구소에도 감사를 드립니다.

LITERATURE CITED

- Altanlar N, Citoglu GS and Yilmaz BS. (2006). Antilisterial activity of some plants used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology*. 44:91-94.
- Becker H, Scher JM, Speakman JB and Zapp J. (2005). Bioactivity guided isolation of antimicrobial compounds from *Lythrum salicaria*. *Fitoterapia*. 7:580-584.
- Bergmeyer HU, Bergmeyer J and Grassl M. (1974). Methods of enzymatic analysis(Vol. 3). Verlag Chemie International. Deerfield Beach. Florida, USA. p.1499-1502.
- Borchardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, Kauppi KL, Fulcher RG, Ehlike NJ, Biesboer DD and Bey RF. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3:707-718.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72:248-254.
- Choi YS, Suh KH and Cho SH. (1991) Effects of ethanol and tocopherol on hepatic peroxidation and mitochondrial respiration in the rat. *Journal of the Korean Society of Food and Nutrition*. 20:409-417.
- Coban T, Citoglu GS, Sever B and Iscan M. (2003). Antioxidant activities of plants used in traditional medicine in Turkey. *Pharmaceutical Biology*. 41:608-613.
- Coudray C, Richard MJ, Faure H and Favier A. (1993). Blood and liver lipid peroxide status after chronic ethanol administrations in rats. *Clinica Chimica Acta*. 219:35-45.
- Ellman GL. (1959). Tissue sulfhydryl group. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 82:70-72.
- Gergel D and Cederbaum AI. (1996). Inhibition of the catalytic activity of alcohol dehydrogenase by nitric oxide is associated with S nitrosylation and the release of zinc. *Biochemistry*. 35:16186-16194.
- Guerri C, Moutoliu C and Reaup-Piqueras J. (1994). Free radicals in diagnostic medicine. Donald Armstrong(ed.). Plenum Press. New York City. New York, USA. p.291-305.
- Humadi SS and Istudor V. (2009). *Lythrum salicaria* (purple loosestrife) medicinal use, extraction and identification of its total phenolic compounds. *Farmacia*. 57:192-200.
- Kathryn G, Zalman A and Brian RS. (1996). The regulation of alcohol consumption in rats : the role of alcohol-metabolizing enzymes-catalase and aldehyde dehydrogenase. *Alcohol*. 13:347-353.
- Kim SM and Lee SW. (1992). The Bibliographical study on the famine relief food of Chosun-dynasty. *Journal of the East Asian of Dietary Life*. 2:35-55.
- Lee SE, Park CG, Ahn YS, Son YD, Cha SW and Seong NS. (2009a). Antioxidative and hepatoprotective effects of *Lythrum salicaria*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:1-7.
- Lee SE, Ahn TJ, Kim GS, Kim YO, Han HS, Seo JS, Chung HY, Park CB, Cha SW, Park HK and Seong NS. (2009b). Antioxidant and anti-fibrotic properties of root extract of *Lythrum salicaria* L. in CCl₄-induced liver fibrosis rat model. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:243-250.
- Lee SE, Kim GS, Han HS, Lee ES, Kim YO, Lee JH, Seong NS, Lee SW and Kim YC. (2010a). Biological activity of organic solvent fractions from *Lythrum salicaria* L. (Root). *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 18:323-328.
- Lee SE, Park CG, Soe JS, Kim SL, Kim GS, Lee JH, Park CB and Kim YC. (2010b). Chemical component contents and physiological activity of *Lythrum salicaria* L. according to plant parts and collected time. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 18:298-304.
- Lee SE, Kim GS, Lee JH, Kang Y, Lee ES, Choi J, Lee AR, Park SJ, Noh HJ and Kim SY. (2011). Effect of plant part extracts of *Lythrum salicaria* L. on chronically alcohol-administrated rat. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 19:334-340.
- Lee TB. (1980). Illustrated Flora of Korea. Hyangmunsa Press. Seoul, Korea. p.564-565.
- Lee WT. (1996). Standard illustrations of Korean plants. Academy Press. Seoul, Korea. p.345-349.
- Lee YN. (2006). New flora of Korea. Hyangmunsa Press. Seoul, Korea. p.784-785.
- Lee WC. (1996). Lineamenta florae Korea. Academy Publishing Company. Seoul, Korea. p.748.
- Ma XJ, Ji CR, Wang YM, Zhang GQ and Liu YZ. (1996). New tannins from *Lythrum salicaria* L. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*. 5:225.
- Nordmann R, Ribiere C and Rauach H. (1990). Pathophysiological relevance of free radicals to the ethanol-induced disorders in membrane lipids. In Paulet D, Douste-Blazy L. and Paolett R. (ed.). Free radicals, lipoproteins and membrane lipids. Plenum Press. New York City. New York, USA. p.309-315.
- Pandanaboina SC, Kondeti SR, Rajbanshi SL, Kunala PN, Pandanaboina S, Pandanaboina MM and Wudayagiri R. (2012). Alterations in antioxidant enzyme activities and oxidative damage in alcoholic rat tissues: protective role of *Thespesia populnea*. *Food chemistry*. 132:150-159.
- Pawlaczyka I, Capekb P, Czerchawskic L, Bijaka J, Tsirigotisa ML, Krold AP and Gancarza R. (2011). An anticoagulant

- effect and chemical characterization of *Lythrum salicaria* L. glycoconjugates. Carbohydrate Polymers. 86:277-284.
- Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonene M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H and Vuorela P.** (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. International Journal of Food Microbiology. 56:3-12.
- Schlorff EC, Husain K and Somani SM.** (1999). Dose- and time-dependent effects of ethanol on plasma antioxidant system in rat. Alcohol. 17:97-105.
- Świergosz-Kowalewska R, Bednarska A and Kafel A.** (2006). Glutathione levels and enzyme activity in the tissues of bank vole *Clethrionomys glareolus* chronically exposed to a mixture of metal contaminants. Chemosphere. 65:963-974.
- Tunalier Z, Kosar M, Kupeli E, Çalis I and Baser KHC.** (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts. Journal of Ethnopharmacology. 110:539-547.
- Venkataranganna MV, Gopumadhavan S, Sundaram R, Peer G and Mitra SK.** (2008). Pharmacodynamics and toxicological profile of PartySmart, a herbal preparation for alcohol hangover in Wistar rats. Indian Journal of Medical Research. 127:460-466.
- Vidal F, Toda R, Gutierrez C, Broch M, Fernandez-Muixi F, Lorenzo A and Richart C.** (1998). Influence of chronic alcohol abuse and liver disease on hepatic aldehyde dehydrogenase activity. Alcohol. 15:3-8.
- Wiese JG, Shlipak MG and Browner WS.** (2000). The alcohol hangover. Annals of Internal Medicine. 132:897-902.
- Yoo YM, Jung EM, Kang HY, Choi IG, Choi KC and Jeung EB.** (2011). The sap of *Acer okamotoanum* decreases serum alcohol levels after ethanol ingestion in rats. International Journal of Molecular Medicine. 28:489-495.