



ISSN 1229-8565 (print)

한국지역사회생활과학회지

Korean J Community Living Sci

<http://doi.org/10.7856/kjcls.2017.28.4.537>

ISSN 2287-5190 (on-line)

28(4): 537~546, 2017

28(4): 537~546, 2017

비파 잎 추출물이 에탄올을 투여한 흰쥐의 간 손상 지표의 개선효과

이 환·박연진¹⁾·이재준[†]

조선대학교 식품영양학과·전남도립대학교 호텔조리제빵과¹⁾

Protective Effects of Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) Leaf Extract on Ethanol-Induced Liver Damage in Rats

Hwan Lee · Yeon Jin Park¹⁾ · Jae-Joon Lee[†]

Dept. of Food and Nutrition, Chosun University, Gwangju, Korea

Dept. of Hotel Cuisine & Baking, Jeonnam Provincial College, Damyang, Korea¹⁾

ABSTRACT

This study was performed to determine the hepatoprotective effects of ethanol extract of loquat leaf (LL) on alcohol-induced liver damage in rats. Sprague-Dawley rats (n=32) were divided into the following four groups: normal group (NOR), ethanol administrated group (ET), ethanol plus LL 200 mg/kg BW/day administrated group (ET-LLL), and ethanol plus LL 400 mg/kg Bw/day administrated group (ET-LLH). Body weight gain and food intake of the ET group were significantly reduced compared to those of the ET-LLL and ET-LLH groups. Serum aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), and lactate dehydrogenase (LDH) activities elevated by ethanol administration were significantly reduced by LL administration. Serum triglyceride (TG) and total cholesterol (TC) contents and hepatic TG and TC contents of the ET group were significantly elevated compared to those of the NOR group. However, TG and TC contents in the serum and liver were significantly reduced in the ET-LLH group. Hepatic glutathione (GSH) contents of the ET-LLL and ET-LLH groups were significantly elevated, and hepatic thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) contents were reduced compared to that of the ET group. Taken together, these results suggest that LL may have a possible protective effect on the improvement of hepatic injury by ethanol administration.

Key words: loquat leaf, ethanol, hepatotoxicity, antioxidant effect, liver

This study was supported by the 2016 research fund of Chosun University.

Received: 9 November, 2017 Revised: 17 November, 2017 Accepted: 17 November, 2017

[†]**Corresponding Author:** Jae-Joon Lee Tel: +82-62-230-7725 E-mail: leejj80@chosun.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.

I. 서론

우리나라는 1980년대 이후 경제성장 발전과 더불어 알코올 소비량이 급격하게 증가되었다. 지나친 음주는 간질환을 비롯하여 식도암 및 구강암을 비롯한 여러 질환의 원인이 되고 있으며, 우리나라의 경우 특히 간질환은 간염 바이러스의 보균 혹은 음주습관에 의해 발병하는 경우가 대부분인 것으로 알려져 있다(Cerutti 1985). 매일 알코올을 섭취하는 것은 폭주와 같은 음주 형태나 음주 종류보다도 간 손상을 더 많이 유발시키는 요인이며, 여기에 영양상태가 나쁘면 간 손상이 더 쉽고 심하게 일어난다고 한다. 또한 만성적인 알코올 섭취는 저혈당과 저체중을 유도하여 에너지 불균형을 유발하기도 하며 지질대사에도 영향을 미쳐 지방산의 과잉생산, 지방산 산화 감소, 말초 지방조직의 지질 분해 증가를 유발하여 중성지방이 간에 축적되어 지방간을 유발한다고 알려져 있다(Lieber 1994).

알코올은 섭취 후 알코올 자체 혹은 알코올의 분해 과정에서 생성되는 아세트알데하이드에 의하여 간과 뇌를 비롯하여 소화기관에서 독성을 나타내며 이로 인해 숙취가 발생한다(Tuma & Casey 2003). 숙취는 두통, 속쓰림 등과 같은 증상으로 과음이나 폭음 등 잦은 알코올 섭취로 야기되어진다. 이러한 숙취를 감소시키기 위해서 음주 후 숙취제거 음료나 약물을 섭취하는 경향이 있다(Park et al. 2006). 숙취제거 음료에 대한 관심이 늘어 이에 대한 많은 연구들이 수행되고 있는데, 헛개나무 추출물(Park et al. 2006), 한방 기능성 음료(Seo & Kim 2001) 등에 관한 연구가 이루어 졌다. 뿐만 아니라 전통적으로 한약재를 이용한 숙취해소 처방을 보면, 갈화 해성탕, 대금음자 및 상백산(Ko et al. 2006)이 있으며, 청간탕은 간질환 치료에 효능이 있다고 연구되었다(Zheng et al. 2004).

비파나무는 장미과(Resaceae)의 상록교목으로 우리나라에서는 제주도를 비롯하여 경남과 전남지역 등 비교적 온화한 기후에서 자생하는 것으로 알려져 있다. 비파 잎은 민간요법으로 진해, 청폐, 거담, 이노, 건위 등의 효능이 있다고 알려져 예로부터 사용하였으

며, 부종, 딸꾹질, 기관지염, 폐열해소, 구역질 등에도 효능이 있다고 알려져 있다(Lee 1982; Yook 1998). 또한 비파 잎은 항암제로서 민간약으로 이용되어 왔다(Whang et al. 1996). 비파 잎은 필수 아미노산, 비타민 A, C 및 E, 식이섬유소 등 다양한 종류의 필수영양소(Lee et al. 2015)와 phytochemical을 함유하고 있으며, triterpene 계열의 화합물인 ursolic acid, tormentic acid, hyptadienic acid, oleanolic acid, maslinic acid 등(Taniguchi et al. 2002; Huang et al. 2007)과 sesquiterpene 배당체인 ferulic acid과 nerolidol 화합물도 함유하고 있다고 보고되었다(Lee et al. 2004). 특히 비파 잎에는 항산화 활성을 나타내는 것으로 알려진 ursolic acid, kaempferol, quercetin-3-sambubioside, chlorogenic acid, methyl chlorogenate, quercetin-3-rhamnosides 등이 다량 함유되어 있다(Jung et al. 1999). 비파 잎에 관한 생리활성 연구로는 항산화효과(Jung et al. 1999), 항당뇨효과(Chen et al. 2008; Kim et al. 2009), 항염증 및 항암효과(Ito et al. 2000, 2002; Banno et al. 2005), 항바이러스효과(De Tommasi et al. 1992)에 대한 연구가 보고되었다. 또한 비파에 함유된 수용성의 함황 아미노산들은 항암효과뿐만 아니라 간 손상 방지효과(Soung et al. 1999)가 있는 것으로 보고된 바 있다. 이와 같이 비파는 생리활성 성분이 다량 함유되어 있어서 새로운 기능성 소재로의 개발 잠재성이 높다.

이에 본 연구에서는 약리효과가 우수하고 생리활성 물질을 다량 함유하고 있는 것으로 알려진 비파 잎을 가지고 생리활성 기능과 이용 가능성에 관한 연구의 일환으로 알코올을 급여한 흰쥐의 간 기능 및 지질대사 개선효과를 동물모델에서 살펴보고자 실시하였다.

II. 연구방법

1. 실험재료

비파(*Eriobotrya japonica* Lindl.) 잎은 2016년 6월 전라남도 목포시 전북마을에서 구입하여 수세, 정선 및 탈수과정을 거쳐 -70°C 동결건조기에 건조하여 분쇄기

로 마쇄하여 분말을 얻었다. 동결 건조한 비파 잎 분말 시료 100 g당 80% 에탄올을 1,500 mL을 첨가하여 환류냉각관을 부착한 65℃의 Heating mantle(Mtops ms-265, Seoul, Korea)에서 3시간씩 3회 반복하여 추출하였다. 추출액은 Whatman filter paper로 여과하였으며, 여과액은 40℃ 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (EYELA VACUUM NVC-1100, Tokyo, Japan)를 사용하여 용매를 제거한 후, 감압·농축한 다음 시료의 산화를 방지하기 위해 -70℃에 냉동 보관하였다. 각 시험항목에 대한 시료의 분석은 3회 반복 실시하였다.

2. 실험동물의 사육 및 식이

실험동물은 생후 5주령 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 32마리를 중앙실험동물(주) (Seoul, Korea)에서 구입하여 조선대학교 실험동물센터에서 1주일 간 고품배합사료로 적응시켰다. 평균 체중 148 g인 것을 난괴법에 따라 각 처리군 당 8마리씩 4군으로 나누어 스테인레스 스틸 케이지에 한 마리 씩 분리하여 사육하였다. 시험군은 Table 1과 같이 정상식이군(NOR), 알코올 투여군(35%, 10 mL/kg/day, ET), 알코올과 비파 잎 추출물 저농도(200 mg/kg bw/day) 투여군(ET-LLL) 및 알코올과 비파 잎 추출물 고농도(200 mg/kg bw/day) 투여군(ET-LLH)으로 나누어 4주간 실시하였다. 시험 시작일로부터 4주간 매일 비파 잎 추출물을 생리식염수에 현탁한 후 zonde를 이용하여 동일한 시간에 1회 경구 투여하였다. 35% 에탄올은 시료 경구 투여 4시간 후에 zonde를 이용하여 경구 투여하였다. 대조군은 실험군과 동일한 양의 증류수를 경구 투여하였다. 사육실 온도는 18 ± 2℃, 조명 cycle은 12시간 주기(08:00~20:00)로 조절하였다. 전 실험기간 동안 사료와 물은 제한 없이 공급하였다. 본 동물실험은 조선대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받고 그 규정에 따라 실행하였다(CIACU2017-A0013).

Table 1. Composition of experimental diet

Groups	Diet composition
NOR	Normal diet ¹⁾
ET	Normal diet + EtOH ²⁾
ET-LLL	Normal diet + LLL ³⁾ + EtOH ²⁾
ET-LLH	Normal diet + LLH ⁴⁾ + EtOH ²⁾

¹⁾According to AIN-93 diet composition(Reeves et al. 1993).

²⁾EtOH: 35 % ethanol 10 mL/kg of b.w./day.

³⁾LLL: Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) leaf ethanol extract 200 mg/kg of b.w./day.

⁴⁾LLH: Loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) leaf ethanol extract 400 mg/kg of b.w./day.

3. 실험동물의 처리

사양시험 종료 후 12시간 절식시킨 다음 CO₂로 가법게 마취시켜 단두 절단하여 혈액을 채취하였으며, 1,150 ×g(4℃)에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리한 즉시 초저온냉동고에서 급속 동결하였다. 간 조직은 적출하여 0.9% 생리식염수로 남아 있는 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 여지로 수분을 제거한 후 중량을 측정하여 다음 드라이아이스에 메탄올을 첨가한 곳에 넣어 급속 동결하여 -70℃의 deep freezer에 보관하였다.

4. 혈청 중 간 기능 지표효소 활성도 및 지질 성분 측정

혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성도, 중성지방, 총콜레스테롤 및 HDL-콜레스테롤 함량은 kit를 사용하여 혈액생화학적 검사 자동분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm, Japan)로 분석하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 Friedwald식(1972)에 의거하여 계산하였으며, 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 ((총콜레스테롤 - HDL-콜레스테롤)/HDL-콜레스테롤)에 의하여 구하였다(Rosenfeld 1989).

5. 간 조직 중 지질 함량 측정

간 조직 중 중성지방과 총콜레스테롤 함량 분석은 먼저 Folch et al.(1957)의 방법에 의하여 총지질을 추

출하였다. 간 조직 0.1 g에 6 mL CHCl₃-Methanol(2 : 1, v/v)을 첨가하여 냉장 상태에서 잘 섞어 준 후 증류수를 첨가하고, 1,900 ×g에서 20분간 원심분리 시킨 다음 지질층에 해당하는 하층부를 취하였다. 이 중 일부는 총콜레스테롤 함량 분석에 사용하였으며, Zlatkis & Zak(1969)의 방법에 의하여 측정하였다. 나머지 용액은 중성지방 함량 분석을 위하여 사용하였으며, Biggs et al.(1975)의 방법으로 측정하였다.

6. 간 조직 중 glutathione(GSH) 함량 측정

간 조직 중 GSH 함량은 Tietze(1969)의 방법을 변형하여 측정하였다. 간 조직 0.1 g에 10배의 5%(w/v) sulfosalicylic acid 2 mL을 첨가하여 polytron homogenizer를 이용하여 균질화한 후 10,000 ×g 에서 10분간 원심분리하였다. 상정액을 취하여 GSH 함량 분석을 위하여 사용하였으며, 시험관에 working buffer 700 μL, 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid 100 μL, 시료액 20 μL 및 증류수 180 μL을 첨가하여 30°C에서 3분간 방치하였다. 그 후 GSSG reductase 용액 5 μL를 첨가하여 잘 섞어 준 다음 412 nm에서 1분 동안 변화되는 흡광도를 측정하였다.

8. 간 조직 중 과산화지질 함량 측정

간 조직 중 과산화지질(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS) 함량은 Buege & Aust(1978)의

방법에 따라 분석하였는데, polytron homogenizer로 균질화한 간 조직의 단백질 함량을 Lowry et al.(1951)의 방법으로 먼저 분석한 후, 단백질 함량을 일정하게 맞춘 다음 TBA 시약(0.25 N HCl에 0.375% TBA 함유)에 butylated hydroxytoluene의 최종 함량이 0.01%가 되도록 첨가하고, homogenate을 가하여 잘 혼합한 다음 98°C로 15분간 가열하여 즉시 냉각시켜 1,500 ×g로 15분간 원심분리하였다. 상정액의 흡광도는 535 nm에서 측정하였는데, 과산화지질 함량은 TBA법을 사용하여 malondialdehyde(MDA) 함량으로 정량하였다.

9. 통계처리

본 실험 결과의 통계처리는 SPSS(Statistical Package for Social Science)를 이용하였으며 실험군당 3회 측정값으로 평균 ± 표준오차로 표시하였다. 각 군간 평균차에 대한 통계적 유의성을 검정하기 위해 일원배치 분산 분석을 실시 한 후 p(0.05 수준에서 Tukey's test를 이용한 사후 검정(Post-Hoc test)을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 흰쥐의 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율을 비교한 결과는 Table 2와 같다. 흰쥐의 체중증가량

Table 2. Changes in body weight, food intake, and food efficiency ratio of rats administered alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	Initial body wt. (g)	Final body wt. (g)	Gained body wt. (g/day)	Food intake (g/day)	Food efficiency ratio ²⁾
NOR	149.50 ± 1.95 ^{2)NS3)}	310.08 ± 5.41 ^{ab4)}	5.74 ± 0.36 ^a	25.01 ± 2.01 ^b	0.23 ± 0.01 ^{NS}
ET	148.67 ± 2.45	280.50 ± 9.97 ^c	4.71 ± 0.23 ^b	20.17 ± 1.02 ^a	0.23 ± 0.02
ET-LLL	148.58 ± 2.01	309.83 ± 6.19 ^{ab}	5.58 ± 0.51 ^{ab}	24.73 ± 2.13 ^b	0.22 ± 0.01
ET-LLH	149.08 ± 2.83	305.25 ± 8.47 ^b	5.76 ± 0.17 ^a	24.81 ± 1.87 ^b	0.23 ± 0.01

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾FER(food efficiency ratio): weight gain(g/day)/food intake(g/day)

³⁾Values are mean ± S. E. of 8 rats per each group.

⁴⁾NS: not significantly different among groups

⁵⁾Values with different superscript in the same column significantly different(p<0.05) among groups by Tukey's test

Table 3. Liver weight of rats administered alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	NOR	ET	ET-LLL	ET-LLH
Liver (g/100 g body wt.)	4.39 ± 0.09 ^{2) b3)}	5.11 ± 0.13 ^a	4.76 ± 0.24 ^a	4.53 ± 0.46 ^b

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾The results are mean ± S.E. of 8 rats per each group.

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

은 알코올을 단독 투여한 ET군이 증류수를 투여한 NOR군에 비해서 18% 정도 유의적으로 감소하는 경향이 있었다. 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물 저농도 혹은 고농도를 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비하여 각각 18%와 22%로 체중이 증가하였다. 식이섭취량의 경우도 ET군이 다른 실험군들에 비해 유의하게 저하되었다. 식이효율은 각 실험군들 간에 유의차가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 Lieber(1985)에 의한 알코올을 섭취 시 체중 증가 및 식이섭취량이 감소되었다는 연구 결과와 유사한 경향이 있었다. 혈중 알코올이 저농도일 경우는 알코올이 대사되어 에너지 생성에 관여하지만, 만성적인 알코올 섭취 혹은 혈중 알코올 농도가 고농도일 경우에는 열 발생반응만을 일으키고 에너지 생성에는 사용하지 않는다고 한다(Lieber 1994). 또한 알코올을 장기 섭취하였을 경우 알코올이 에너지원 사용되어 에너지 필요량을 일부 충족시키기 때문에 식이섭취량이 감소되어 진다는 보고(Pirola & Lieber 1972)가 있으며, 만성적인 알코올 섭취는 소장에서의 영양소 흡수를 저해시켜 이로 인해 영양불균형이 일어나 체중이 저하되기도 한다는 보고(Mendenhall et al. 1969)도 있다. 따라서 본 연구 결과 비파 잎 추출물은 알코올을 섭취에 의한 체중저하를 개선시키는 것으로 여겨진다.

2. 간 조직 무게

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 흰쥐의 체중 당 간 비율 무게는 Table 3에서와 같이 비교하였다. 체중 당 간조직의 무게는 알코올만을 단독 투여한 ET군이 다른 실험군들에 비하여 유의적으로 증가하였다. 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물

을 저농도(ET-LLL) 혹은 고농도(ET-LLH) 병합 투여하였을 경우 체중 당 간 조직의 무게는 감소되는 경향을 보였다. 그러나 비파 잎 추출물을 고농도로 투여한 ET-LLH군만이 ET군에 비하여 유의하게 저하되었으며, NOR군과는 비슷한 수치를 나타내었다. 이는 장기간 알코올 투여하면 간이 손상되어 지방간이 유발되었거나, 장기간에 걸친 알코올대사 과정 중 생성된 독성 물질이 산화되면서 간의 염증성 손상으로 중량이 더 나갈 것이라는 Lee et al.(1993)의 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 또한 만성적인 알코올 섭취 증상으로 는 간세포의 세포질에 지방, 단백질 및 수분 등이 축적되어 간세포의 용적이 증가함에 따라 간 비대현상이 나타난다는 연구 결과도 있다(Lieber 1985,1994).

3. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 흰쥐의 간 손상 지표 효소인 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성 변화를 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성은 알코올만을 단독 투여한 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였다. 알코올 투여로 증가되어진 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성은 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 저농도(ET-LLL) 혹은 고농도(ET-LLH) 병합 투여로 인하여 이들 효소들의 활성이 농도 의존적으로 저하되는 경향이었으나, 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 고농도로 병합 투여한 ET-LLH군만이 ET군에 비하여 유의하게 저하되었다. 간세포의 변성이나 괴사를 나타내는 biomarker로 알려진 효소인 ALT와 AST은 고지방식이, 만성적인 알코올 섭취로 인한 지방간이 유발되거나 혹은 간 조직에 독성물질이 존재할 경우 간세포가 손상되

Table 4. ALT, AST, ALP, and LDH activities in serum of rats treated with alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	ALT	AST	ALP	LDH
	(U/L)			
NOR	35.16±3.98 ²⁾³⁾	113.25±5.85 ^c	509.23±50.33 ^c	599.43±30.16 ^c
ET	52.36±4.21 ^a	159.63±9.87 ^a	826.36±65.98 ^a	801.23±45.232 ^a
ET-LLL	47.36±2.78 ^a	148.69±7.36 ^a	793.36±57.82 ^{ab}	746.23±50.11 ^{ab}
ET-LLH	39.36±2.40 ^b	136.23±3.36 ^b	721.23±65.11 ^b	683.52±43.34 ^b

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾The results are mean ± S.E. for 8 rats in each group.

³⁾Values with different superscripts in the same column are significantly different($p < 0.05$) between groups by Tukey's test

어 수송기관과 막 투과성이 변화를 초래하여 이들 효소의 방출이 항진되어 혈청 중 활성이 증가한다고 한다 (Bjorntorp 1988, 1990). ALP는 간 혹은 담도질환 시 활성치가 상승하며, LDH는 심급성 간염, 초기간염 사에 현저하게 활성이 증가하는 것으로 알려진 효소이다 (Ki et al. 1993; Kanh et al. 1995). 따라서 본 연구에서 4주간 만성적인 알코올 투여로 인해 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성이 유의하게 증가하였다는 것은 간 손상이 나타난 것을 보여주고 있다. 알코올 대사과정에서 간 처리 능력 이상으로 생성된 활성 산소종의 독성은 flavonoid와 같은 항산화성분의 작용으로 인하여 감소된다고 한다(Shin et al. 2007). 본 연구에 사용된 피과 잎 에탄올 추출물의 총 polyphenol과 총 flavonoid 화합물 함량은 각각 129.32 ± 1.79 mg/mL와 103.43 ± 0.88 mg/mL(data not shown)로 항산화성분들을 다

량 함유하고 있어서 비과 잎 추출물 투여로 이들 효소의 활성이 감소하는 것으로 보아 비과 추출물이 간세포의 장애를 억제시켜 간 대사에 긍정적인 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

4. 혈청 중 지질성상 변화 및 동맥경화지수

알코올과 비과 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 흰쥐의 혈청 중 지질 성상 변화와 동맥경화지수를 측정된 결과는 Table 5와 같다. 혈청 중 중성지방 함량은 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였고, 알코올과 비과 잎 에탄올 추출물을 저농도 혹은 고농도로 병합 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비하여 농도 의존적으로 저하되었다. 특히 비과 잎 에탄올 추출물 고농도 투여군인 ET-LLH군은 NOR군 보다는 증가하였으나, 두 군간에는 유의차가 없었다.

Table 5. Triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol contents, AI, and HTR in serum of rats treated with alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	Triglyceride	Total cholesterol	LDL-cholesterol	HDL-cholesterol	AI ²⁾
	(mg/dL)				
NOR	66.23 ± 3.21 ³⁾⁴⁾	90.38 ± 3.29 ^b	50.73 ± 3.25 ^b	38.21 ± 1.98 ^a	1.37 ± 0.24 ^d
ET	98.23 ± 3.01 ^a	119.63 ± 5.59 ^a	74.01 ± 2.01 ^a	24.19 ± 2.98 ^b	3.95 ± 0.13 ^a
ET-LLL	89.23 ± 5.18 ^a	98.26 ± 4.26 ^{ab}	67.23 ± 3.22 ^{ab}	29.34 ± 1.87 ^{ab}	2.35 ± 0.19 ^b
ET-LLH	77.23 ± 3.00 ^b	92.33 ± 5.01 ^b	55.06 ± 2.92 ^b	35.42 ± 2.61 ^a	1.60 ± 0.27 ^c

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾AI(atherogenic index) = (total cholesterol - HDL-cholesterol)/HDL-cholesterol

³⁾The results are mean ± S.E. for 8 rats in each group.

⁴⁾Values with different superscripts in the same column are significantly different($p < 0.05$) between groups by Tukey's test

만성 알코올 섭취 시 혈청 중 중성지방 함량이 증가하는 이유는 유리지방산의 에스테르화를 촉진하고, chylomicron remnants 대사와 분해 기능을 저하시키고, 중성지방의 이용률이 감소되거나, 체내 알코올대사로 인한 NADH/NAD⁺ 비율이 증가되어지는 등 다양한 원인 때문이라고 한다(Chiat et al. 1972; Lieber 1994). 혈청 중 총콜레스테롤 함량도 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 저농도 혹은 고농도로 병합 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비하여 감소하는 경향을 보였으나, 비파 잎 에탄올 추출물을 고농도 투여한 ET-LLH군만이 유의하게 저하되었다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤의 함량은 알코올을 단독 투여한 ET군이 다른 실험군들에 비하여 가장 낮은 경향이였다. 동맥경화의 발병을 낮추는 주요 인자로 알려진 HDL-콜레스테롤은 알코올성 간질환시 함량이 저하된다는 Lee & Chun(2009)의 연구 결과와 비슷한 경향을 나타내었다. 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 저농도 혹은 고농도 병합 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비해 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량을 유의하게 증가하는 경향을 보였으나, NOR군에 비해서는 낮은 수치를 보였다. 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량은 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였다. 알코올과 비파 추출물 고농도 병합 투여한 ET-LLH군은 ET군에 비해 혈청 중 LDL-콜레스테롤 함량이 유의하게 감소하였다. 동맥경화지수도 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였으며, 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 저농도 혹은 고농도 병합 투여한 LET-LLL군과 ET-LLH군의 동맥경화지수는 ET군에 비하여 유의하게 감소하였다. 여러 역학적 조사연구나 임상연구 결과 항산화 영양소가 풍부한 채소 및 과일류의 섭취가 많을수록 만성질환의 발병을 낮추는 것으로 보고되었다(Cho et al. 2003; Won et al. 2005). 또한 비파 잎과 같이 식물체에 함유되어 있는 phenolic 화합물들이 콜레스테롤 저하작용, 항산화 작용 등 다양한 생리활성 기능을 가지고 있기 때문인 것으로 보여진다(Choi et al. 2006). 본 실험의 결과 비파 잎 추출물은 혈청 중

중성지방 및 콜레스테롤 농도에 관여하며, 특히 총 콜레스테롤과 LDL-콜레스테롤 농도를 저하시켜 동맥경화지수를 낮추어 심혈관계 질환 예방에 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

5. 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤 함량

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 흰쥐의 간 조직 중 중성지방 및 총콜레스테롤의 함량을 비교한 결과는 Table 6과 같다. 간 조직 중 중성지방 함량은 NOR군에 비하여 ET군이 유의하게 증가하는 것을 볼 수 있었다. 알코올 투여로 증가되어진 중성지방 함량은 알코올과 비파 에탄올 추출물을 농도별로 병합 투여하였을 경우 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 경향을 보였다. 간 조직 중 총콜레스테롤 함량도 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가하였다. 비파 추출물 투여로 간 조직 중 총콜레스테롤 함량도 감소되는 경향을 나타내었으나, 알코올과 비파 추출물을 고농도 병합 투여한 ET-LLH군만이 ET군에 비해 유의하게 감소하였다. Phenolic 화합물은 간 조직의 콜레스테롤 함량을 저하시킨다고 보고되었다(Sugano et al. 1990). 본 연구에 사용된 피파 잎 에탄올 추출물은 총 polyphenol과 총 flavonoid 화합물을 비롯하여 항산화 성분들이 다량 함유하고 있어(Jung et al. 1999), 비파 잎 추출물이 간 조직의 지질대사 개선에도 간여하는 것으로 보여진다.

Table 6. Triglyceride and total cholesterol contents in liver of rats administered alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	Triglyceride	Total cholesterol
	(mg/g)	
NOR	24.31 ± 1.86 ^{2)c3)}	4.18 ± 0.31 ^c
ET	50.69 ± 5.24 ^a	6.38 ± 0.90 ^a
ET-LLL	44.21 ± 2.01 ^{ab}	6.01 ± 0.23 ^a
ET-LLH	40.31 ± 2.26 ^b	5.23 ± 0.24 ^b

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾The results are mean ± S.E. for 8 rats in each group.

³⁾Values with different superscripts in the same column are significantly different(p<0.05) between groups by Tukey's test

6. 간 조직 중 GSH 함량

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 간 조직 중 GSH 함량이 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 7과 같다. 간 조직 중 GSH 함량은 알코올을 단독 투여한 ET군이 다른 실험군들에 비하여 가장 낮았고, 알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 저농도 혹은 고농도 병합 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비하여 유의하게 증가되었다. GSH는 비단백 thiol 구조인 항산화물질로 GSH-peroxidase와 glutathione-S-transferase와 같은 외부의 산화적 세포 손상에 대한 방어작용을 나타내는 효소의 기질로 사용되어지며, 세포 내 지질과산화물과 이물질 제거작용 및 아미노산 수송과 저장 등 다양한 세포 기능을 수행하는 중요한 역할을 한다(Lieber 1980). 본 연구결과 알코올 투여로 감소되어진 간 조직의 GSH 함량은 항산화 활성 성분을 다량 함유하고 있는 비파 추출물의 급여로 GSH 함량 감소를 억제시켜 간 조직의 항산화계에 긍정적인 영향을 미치는 것으로 사료된다.

7. 간 조직 중 과산화지질 함량

알코올과 비파 잎 에탄올 추출물을 농도별로 경구 투여 후 간 조직 중 과산화지질 함량을 측정된 결과는 Table 7에서와 같이 알코올을 4주간 경구 투여한 ET군이 NOR군에 비하여 유의하게 증가되었다. 지질과산화는 활성 산소종이 매개하여 간 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다(Paradis et al. 1998). 알코올과 비파 추출물을 병합 투여한 ET-LLL군과 ET-LLH군은 ET군에 비해서 유의하게 감소하는 경향을 보였다. 간 조직 중 과산화지질 함량이 감소된 것은 비파 추출물에 함유된 polyphenol 및 flavonoid 화합물과 같은 생리활성 물질은 항산화 비타민 및 항산화 무기질과 함께 free radical의 생성을 억제시킬 수 있을 것으로 사료된다.

Table 7. GSH and TBARS contents in liver of rats administered alcohol and/or loquat leaf ethanol extract

Groups ¹⁾	GSH ($\mu\text{g/g}$ protein)	TBARS (nmol/g protein)
NOR	11.39 \pm 0.52 ^a	11.09 \pm 0.47 ^c
ET	7.59 \pm 0.24 ^c	21.69 \pm 0.51 ^a
ET-LLL	7.93 \pm 0.18 ^c	16.12 \pm 0.32 ^b
ET-LLH	8.85 \pm 0.34 ^a	15.36 \pm 0.74 ^b

¹⁾See the legend of Table 1

²⁾The results are mean \pm S.E. for 8 rats in each group.

³⁾Values with different superscripts in the same column are significantly different(p(0.05) between groups by Tukey's test

IV. 요약 및 결론

비파 잎 에탄올 추출물이 만성적인 알코올을 투여한 흰쥐에서 간 기능 개선효과와 지질대사에 미치는 효과를 알아보고자 실시하였다. 만성적인 알코올 섭취로 저하된 체중은 비파 잎 추출물 투여로 유의적으로 증가하였다. 체중 당 간 조직의 무게는 알코올 투여로 증가되어진 무게가 비파 잎 추출물 투여로 다소 감소하는 경향을 보였다. 간 손상 지표 효소인 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 활성도 알코올을 단독 투여한 대조군(ET)에 비하여 알코올과 비파 잎 추출물을 고농도 병합 투여한 ET-LLH군이 유의하게 저하되었다. 혈청 중 중성지방과 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤 함량은 대조군(ET)은 정상군(NOR)에 비하여 유의하게 증가하였고, 알코올과 비파잎 추출물 병합 투여로 감소하는 경향을 보였다. 혈청 중 HDL-콜레스테롤 함량은 대조군(ET)이 가장 낮았으며, 알코올과 비파잎 추출물 병합 투여로 증가하는 경향을 보였다. 간 조직 중 중성지방과 총콜레스테롤 함량도 대조군(ET)이 정상군(NOR)에 비하여 유의하게 증가하였고, 비파 잎 추출물 투여로 경향을 보였다. 비파 잎 추출물은 간 조직 중 GSH 함량을 증가시키고, 과산화지질 함량의 증가를 억제시켜 알코올에 의한 산화적 스트레스로부터 간을 보호하는 것으로 확인되었다.

References

- Banno N, Akihisa T, Tokuda H, Yasukawa K, Taguchi Y, Akazawa H, Ukiya M, Kimura Y, Suzuki T, Nishino H(2005) Anti-inflammatory and antitumor promoting effect of the triterpene acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. Biol Pharm Bull 28(10), 1995-1999
- Bjorntorp P(1988) The associations between obesity, adipose tissue distribution and disease. Acta Med Scand 723(1), 121-134
- Bjorntorp P(1990) "Portal" adipose tissue as a generator of risk factors for cardiovascular disease and diabetes. Arteriosclerosis 10(4), 493-496
- Buege JA, Aust SD(1978) The thiobarbituric acid assay. Methods Enzymol 5(4), 306-307
- Biggs HG, Erikson TM, Moorehead WR(1975) A manual colorimetric assay of triglyceride in serum. Clin Chem 21(3), 437-441
- Corutti PA(1985) Prooxidant states and tumor promotion. Sci 227(4685), 375-381
- Chiari A, February AW, Mancru A, Lewis B(1972) Clinical and metabolic study of alcoholic ethanol. Pharmacol 7(1), 62-64
- Chen J, Li WL, Wu JL, Ren BR, Zhang HQ(2008) Hypoglycemic effects of a sesquiterpene glycoside isolated from leaves of loquat(*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.). Phytomed 15(1-2), 98-102
- Cho SY, Oh YJ, Park JY, Lee MK, Kim MJ(2003) Effect of dandelion (*Taraxacum officinale*) leaf extracts on hepatic antioxidative system in rats fed high cholesterol diet. J Korean Soc Food Sci Nutr 32(3), 458-463
- Choi SY, Cho HS, Sung NJ(2006) The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape(*Vitis coignetiea*) skin. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(8), 961-966
- De Tommasi N, De Simone F, Pizza C, Mahmood N, Moore PS, Conti C, Orsi N, Stein ML(1992) Constituents of *Eriobotrya japonica*. A study of their antiviral properties. J Nat Prod 55(8), 1067-1073
- Folch J, Lees M, Sloane-Stanley G(1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 226(1), 497-509
- Friedwald W, Levy R, Fredrickson D(1972) Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 18(6), 499-502
- Huang Y, Li J, Wang R, Wu Q, Li YH, Yu SC, Cheng WM, Wang YY(2007) Effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica*(Thunb.) Lindl. leaf on inflammatory cytokine and mediator induction from alveolar macrophages of chronic bronchitic rats. Inflamm Res 56(2), 76-82
- Ito H, Kobayashi E, Takamatsu Y, Li SH, Hatano T, Sakagami H, Kusama K, Satoh K, Sugita D, Shimura S, Itoh Y, Yoshida T(2000) Polyphenols from *Eriobotrya japonica* and their cytotoxicity against human oral tumor cell lines. Chem Pharm Bull 48(5), 687-693
- Ito H, Kobayashi E, Li SH, Hatano T, Sugita D, Kubo N, Shimura S, Itoh Y, Tokuda H, Nishino H, Yoshida T(2002) Antitumor activity of compounds isolated from leaves of *Eriobotrya japonica*. J Agric Food Chem 50(8), 2400-2403
- Jung HA, Park JC, Chung HY, Kim J, Choi JS(1999) Antioxidant flavonoids and chlorogenic acid from the leaves of *Eriobotrya japonica*. Arch Pharm Res 22(2), 213-218
- Kanh BH, Son HY, Lee HS, Song SW(1995) Reference values of hematology and serum chemistry in kite Sprague-Dawley rats. Korean J Lab Ani Sci 11(1), 141-145
- Ki HY, Song SW, Ha CS, Han SS(1993) Effects of the population density on growth and various physiological values of Sprague-Dawley rats. Korean J Lab Ani Sci 9(3), 71-82
- Kim E, Kim MS, Rhyu DY, Min OJ, Back HY, Kim YJ, Kim HA(2009) Hypoglycemic effect of *Eriobotrya japonica*(E. japonica) in db/db mice. Korean J Food Nutr 22(2) 159-165
- Ko BS, Jang JS, Hong SM, Kim DW, Sung SR, Park HR, Lee JE, Jeon WK, Park SM(2006) Effect of new remedies mainly comprised of *Hovenia dulcis* Thunb on alcohol degradation and liver protection in Sprague Dawley male rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 35(7), 828-834
- Lee CB(1982) Korean pictorial book of plants. Seoul: Hyangmoonsa, pp684-687
- Lee CH, Jung YJ, Park DK, Kim CW, Han YB, Lee WC, Kim JB(1993) Effect of ascorbate and α -tocopherol administration on liver function in chronically ethanol-treated rats. J Korean Soc Food Nutr 22(2), 132-137
- Lee EH, Chyun JH(2009) Effects of Chonggukjang intake on lipid metabolism and liver function in alcoholic fatty liver rats. J Korean Soc Food Sci Nutr 38(11), 1506-1515
- Lee H, Kim YK, Lee JJ(2015) A comparison of nutritional components of loquat(*Eriobotrya japonica* Lindl.) powder in different aerial components. Korean J Community Living Sci 26(3), 541-549
- Lee MH, Son YK, Han YN(2004) Tissue factor inhibitory sesquiterpene glycoside from *Eriobotrya japonica*. Arch Pharm Res 27(6), 619-623
- Lieber CS(1980) Interaction of ethanol with drug, hepatotoxic agent, carcinogen and vitamins. Alcoholism 25(2-3), 157-171
- Lieber CS(1985) Alcohol and the liver metabolism of ethanol metabolic effects and pathogenesis of injury. Acta Med Scand Suppl 703(1), 11-55
- Lieber CS(1994) Alcohol and the liver. Gastroenterol 106(4), 1085-1105

- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ(1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193(1), 265-275
- Mendenhall CL, Bradford RH, Furman RH(1969) Effects of ethanol on glycerolipid metabolism in rat liver. Biochim Biophys Acta 187(4), 501-509
- Park EM, Ye EJ, Kim SJ, Choi HI, Bae MJ(2006) Eliminatory effect of health drink containing *Hovenia dulcis* Thunb extract on ethanol-induced hangover in rats. Korean J Food Cult 21(1), 71-75
- Pirola R, Lieber CS(1972) The energy cost of the metabolism of drugs including ethanol. Pharmacol 7(3), 185-194
- Reeves PG, Nielson FH, Fahey Jr GC(1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. J Nutr 123(11), 1939-1951
- Rosenfeld L(1989) Lipoprotein analysis. Early methods in the diagnosis of atherosclerosis. Arch Pathol Lab Med 113(10), 1101-1110
- Seo KH, Kim SH(2001) A study on the analysis of oriental functional beverage and on the blood alcohol concentration of rat after drinking liquors. J Korean Food Nutr 14(3), 222-227
- Shin HK, Seo YJ, Kim JY, Kim CS, Noh SK(2007) Onion favorably affects serum markers of ethanol-induced fatty liver in rats. Korean J Food Preserv 14(6), 662-668
- Soung DY, Kim JS, Chung HY, Jung HA, Park JC, Choi JS (1999) Flavonoids and chlorogenic acid from *Eriobotrya japonica* scavenge peroxynitrite. Nat Prod Sci 5(2), 80-84
- Sugano M, Goto S, Yamada Y, Yoshida K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M(1990) Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats. J Nutr 120(9), 974-978
- Taniguchi S, Imayoshi Y, Kobayashi E, Takamatsu Y, Ito H, Hatano T, Sakagami H, Tokuda H, Nishino H, Sugita D, Shimura S and Yoshida T(2002) Production of bioactive triterpenes by *Eriobotrya japonica* calli. Phytochem 59(3), 315-323
- Tietze F(1969) Enzymatic methods for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. Anal Biochem 27(3), 502-522
- Tuma DJ, Casey CA(2003) Dangerous byproducts of alcohol breakdown-focus on adducts. Alcohol Res Health 27(4), 258-290
- Whang TE, Lim HO, Lee JW(1996) Anticancer effect of *Eriobotrya japonica* Lindl by specificity test with several cancer cell line. Korean J Medi Crop Sci 4(4), 314-320
- Won HR, Lee SG, Park DY(2005) Effects of hot water soluble extract from green tea on the lipid metabolism and antioxidant effect in rats fed animal or vegetable protein and a hypercholesterol diet. Korean J Community Living Sci 16(12) 39-45
- Yook CS(1998) Coloured medicinal plants of Korea. Seoul: Academic Publishing Co, p261
- Zheng CX, Yim DS, Lee SY(2004) The effects of Ka-Mi-Chung-Gan-Tang on rat with alcoholic fatty liver. Korean J Pharmacogn 35(3), 229-232
- Zlatkis A, Zak B(1969) Study of a new cholesterol reagent. Anal Biochem 29(1), 143-148