

## 발미나리 발효액이 알콜투여 흰쥐의 간기능관련효소활성에 미치는 영향

黃台益\* · 林賢玉\* · 李載窪\*

### Effect of Fermented (*Oenanthe stolonifera* DC) Extract on the Activity of Enzymes Related to Liver Function of Alcohol-administered Rats and Mice

Tay-Eak Whang\*, Hyun-Ock Lim\* and Jae-Wa Lee\*

**ABSTRACT** : It has long been recognized that dropwort contains specific functional substances for protecting human liver and preventing and curing its diseases, and thus it has been widely utilized in traditional folk remedy. In the present study, fresh or fermented extract of dropwort shoots grown on dryland and fresh extract of those grown on flooded field were fed to the rats suffering from acute, subacute or chronic intoxication induced by alcohol administration, and their effects were investigated. Administration of alcohol to rats and mice for 2 days at 5ml of 30% EtOH/kg/day raised total cholesterol and total glyceride which were, however, greatly suppressed when alcohol was administered to the laboratory animals previously fed on fresh or fermented extract of dryland dropwort, or fresh extract of flooded field-grown dropwort for 20 days, without significant differences among the extracts. The levels of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase which were raised by alcohol administration were also lowered by feeding dropwort extract, among which that of fermented dryland-grown one was more effective than the other two. Chronic alcohol intoxication was induced to rats by administering 10% alcohol for 10 months and fermented dropwort extract or tap water was fed to the rats for 5 days. The rats fed on fermented dropwort extract were lower in total cholesterol by 40% and in total glyceride by 60% than the control. Alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase in the rats fed on fermented dropwort extract were decreased by 87.2% and 91.7%, respectively, compared to the control, and the rats recovered almost to normal. Activity of alkaline phosphatase, catalase, superoxide dismutase or glutathione peroxidase changed greatly by alcohol administration in the rats suffering from chronic as well as acute intoxication. The extract of fermented dryland dropwort significantly lowered the activity of those enzymes, especially, alkaline phosphatase and superoxide dismutase. The present results suggest the possible medicinal effect of fermented dropwort extract to liver diseases.

**Key words** : Dropwort, Alcohol, enzyme.

---

\* 全南大學校 農科大學 (Coll. of Agri. Univ. of Chonnam, Kwangju 500-757, Korea)

( '99. 3. 29 접수 )

## 서 론

미나리(*Oenanthe stolonifera* DC)는 산형과의 다년생초본으로서 수생식물로 인식되고있으며 수중재배가 일반적인 재배양식으로 되어있다. 최근 하천오염이 심각해지면서 식용은 하우스에서 지하수를 이용하여 사계절공급 되고 있으며 미나리가공을 목적으로 발재배기술이 개발되어있다. 이러한 미나리의 용도는 채소로 이용되는 것이 보통이고 요즘은 녹즙으로도 많이 응용 되고 있다. 채소와 녹즙의 경우 저장성이 문제되기 때문에 장기 저장과 효능을 강화할 목적으로 미나리를 효모 발효시킨 가공품도 등장하여 이용되고 있으며 일부 한방에서는 건조품을 사용하기도 한다. 한방에서는 수근이라고 하여 해열, 이뇨, 황달, 고혈압의 치료에 이용하거나 음주후의 해독을 위해서 조제에 첨가 하는 것으로 알려져 있다. 그밖에도 민간에서는 인체의 간장보호와 하리등에 널리 사용되고있음은 주지의 사실이다. 미나리는 녹황색채소중에서도 연중이용이 가능한 채소로서 비타민 A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C를 많이 함유하고있으며 Ca, P, Fe, Mg등의 무기질도 풍부하게 함유한 알칼리성식품재료이다. 이와같이 미나리는 채소이상의 기능성식품으로 이용될뿐만아니라 돌미나리 추출물로부터는 아주높은 항돌연변이 효과가 있음을 이등(1992)은 보고하였으며 박등(1992)도 MNNG에 의해서 유도된 위암세포의 성장을 억제한다는 사실과 실험동물에서 진통효과(박종철등, 1994)가 인정된다는 보고를 보면 약품개발가능성도 잠재하고 있음을 알수있다.

일반적으로 알콜의 인체에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구자들에 의해서 보고되어있는데 그중에서 가장 많은 보고는 알콜을 과량섭취하거나 만성섭취는 간조직의 구조와 기능에 중중의 장애를 가져올수 있다는 것이다. (Lieber, 1981; Liu et al 1975) 실제로 바이러스나 음주에 의해서 가장 많이 발생하는 간염(만성간염⇒간경변)이나, 간암의 경우 확실한 치료약이 없기 때문에 치유보다는 더 이상 질병이 진행되지 않도록하는 소극적치료 조절에 의존하고 있는 것이 현실이다. 따라서 간을 보호하고 치유효과가 있는 약물이나 기능성식품을 개발하는 것은 대단히 중요하다. 특히 우리나라는

과음과 폭주의 음주문화를 가지고 있어서 알콜성 간장질환이 많은 것으로 알려져있다. 이러한 알콜로부터 나타나는 간질환의 치료를위한 합성의약품의 보고(Gabuzda, 1958; Rubin & Lieben, 1968)가 있으나 이러한 합성화학 의약품은 부작용과 독성을 간과 할 수 없다. 따라서 부작용없는 예방과 치유가능한 자연식품의 개발은 국민보건상 대단히 중요하다.

미나리는 간장보호와 숙취의 해독을 위해서 민간에서 널리 이용되고 있음에도 불구하고 아직 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 이에 대한 체계적연구의 첫번째 과제로서 알콜에 의해서 유도된 간장장애에 대한 미나리의 효과를 조사하였다. 우선 본 연구에서는 실험동물을 알콜로 간장장애를 유도하고 몇가지 미나리 추출액을 투여하여 간기능과 관련된 효소(Rubin & Lieben, 1968)의 활성등을 조사하였던바 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물·식물재료

실험에 사용된 흰쥐는 200g 또는 300g 미만의 암컷 Sprague Dawley랫트와 8주된 25g정도의 Balb/c마우스를 실험에 사용하였으며 사육은 공조시설을 갖춘 25℃로, 별도조명은 하지않았으며 식이는 실험동물사료를 사용하였으며, 급수는 수돗물을 사용하였다. 모든 실험은 매처리조건마다 5마리를 1군으로하여 수행하였다.

미나리는 전남화순군에서 재배되는 발미나리와 물미나리는 시판품의 생산지를 확인하여 물재배된 것을 사용하였다. 발미나리와 물미나리 추출은 생업을 균질기로 마쇄후 추출하여 여과정제하였으며 발미나리발효액은 서당첨가2주 발효침출액을 여과후 사용하거나 동일한 기성품을 구입하여 적정농도로 희석사용하였다.

#### 2) 시약

총 cholesterol (TC) 과 총triglyceride (TG)는 인화제약의 키트를 사용하여 분석하였으며 alanine

aminotransferase (ALT/GPT)와 aspartate aminotransferase (AST/GOT) 키트와 ferricytochrome c, NADPH, xantine, xantine oxidase, glutathione reductase 등은 Sigma 화학사 제품을 사용하였으며 ethyl alcohol (EtOH) 과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 Merck 사 제품을 사용하였고 단백질은 Bio-Rad사의 정량 키트를 사용하였다. 기타 시약들도 시약급 이상을 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 알콜 처리

아급성과 급성알콜중독의 유도를 위해서는 30% 에탄올 (5ml/day) catheter를 사용하여 intubation 방법으로 강제투여하였으며 미나리의 추출액도 동일한 방법으로 처리하였다. 급성과 아급성 알콜중독의 유도는 kato (1990)와 Liu 등 (1975)의 방법을 약간 변경하여 수행하였다. 급성은 24시간 동안 3회 처리로 그리고 아급성은 10일 동안 처리에 의해서 수행하였다. 만성알콜중독을 위해서는 10개월 동안 10% 에탄올을 급수대신 공급 하였다.

### 2) 채혈

채혈은 가능한 6시간 전부터 금식을 시켜서 心臟 穿刺하거나 꼬리 정맥으로부터 채혈한다음 1시간 동안 4℃에서 응고시켜 5000rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 얻었다.

### 3) 효소활성 측정

각 효소의 활성 측정은 아래와 같은 방법으로 측정하였으며 조직중 효소의 비활성은 각각의 측정 조건하에서 혈청단백 1 mg당 1분 동안 효소반응에 의해 생성되어 측정된 흡광도의 증가 또는 감소량을 환산 표시하였다. 이때 단백질량은 소혈청 albumin을 표준단백으로 하여 Bio-Rad사의 단백질량 키트의 미량분석법에 의해서 시행하였다.

TC와 TG; 측정용 키트에 의해서 발색되는 색소를 505nm에서 측정하였으며 표준곡선을 작성하여 직선회귀식으로부터 미지의 함량을 분석하였다.

ALT와 AST; 측정용 키트를 사용하여 측정하였다. 즉 ALT와 AST의 작용을 받아서 생성되는 각각의 pyruvate와 oxaloacetate에 NADH를 가하여 산화된 NAD를 340nm에서 측정하여 정량상수를 이

용하여 활성을 계산하였다. 자세한 방법은 제조회사에서 제공하는 방법을 사용하였다.

Alkaline phosphatase ; 4.5mM p-nitrophenylphosphate와 0.05% Triton X-100 이 함유된 0.1M diethanolamine-HCl (pH 9.75) 1ml에 혈청 100μl를 가하여 37℃에서 10분간 부치후 5N KOH 100μl를 가하여 반응을 중지시킨 뒤 405nm에서 흡광도를 측정하였다 (Absolom, 1993). 효소 활성의 계산은 시료 100μl에 의해서 분해된 1 μM phosphate의 흡광도가 1.15 (A405)일 때 mg단백당 함유된 unit로서 환산하였다.

Catalase ; 활성 측정은 Aebi (1974)가 기술한 방법에 따랐다. 즉 실온에서 50mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 7.0)와 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 포함하는 혼합액 1ml에 효소액 50ul를 가하여 섞은 다음 파장 240nm에서 흡광도 감소를 30초 간격으로 측정하였다.

Superoxide dismutase ; McCord와 Fridovich (1969)이 기술한 방법에 따랐다. 즉 1cm 길이의 cuvette에 50mM potassium phosphate 완충액 (pH 7.8), 0.1mM EDTA, 10μM ferricytochrome c, 50μM xantine 과 10μM xantine oxidase를 넣고 실온에서 파장 550nm의 흡광도를 측정하면 분당 0.054정도 증가하였다. 이때 상기 혼합액 1ml에 여러 배수의 혈청희석액 50 μl를 가하여 흡광도 증가율 50%를 억제하는 혈청단백량을 계산하였다. 정제된 소적혈구 SOD를 이용하여 상기 조건에서 측정 한 결과 약 2.1 unit가 흡광도의 증가를 50% 억제하였다. 따라서 이를 기준으로 하여 혈청중의 SOD 활성을 mg단백당 함유된 unit로 환산하였다.

Glutathione peroxidase ; Rister와 Baehner (1976)가 기술한 방법에 의해서 측정하였다. 즉 실온에서 5mM EDTA를 포함하는 50mM sodium phosphate 완충액 (pH 7.0) 2.48ml, 0.4mM NADPH 0.1ml, 0.15M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 0.01ml, 0.01ml (4.6units) glutathione reductase와 0.2ml의 혈청희석액을 포함하는 혼합액에 0.1ml의 2.2mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 가하여 섞고 파장 340nm에서의 흡광도 감소를 30초간격으로 측정하였다. 이때의 혈청희석액이 없는 상태에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 NADPH의 비효소적 산화를 측정하여 상기 측정값에서 공제하였다.

## 결과 및 고찰

발미나리 발효액과 추출물 및 물미나리추출물의 생체내 간장장애에 미치는 기능성을 확인하기 위하여 이발효액과 추출물을 랫트와 마우스에 각각 20일동안 급여 시킨다음 에탄올을 1일 3회씩 2일 동안 급여한 뒤 효과를 조사하였다(표 1).

Table. 1. Effect of fresh and fermented dropwort (*Oenanthe stolonifer DC*) extract on alcohol-administrated rats and mice

Experimental animal	Total cholesterol (mg/dl)	Total glyceride (mg/dl)	ALT (U/L)	AST (U/L)
Rat	I 64.96±1.29 <sup>c</sup>	61.85±1.12 <sup>c</sup>	42.45±1.33 <sup>c</sup>	101.62±1.64 <sup>c</sup>
	II 86.63±2.39 <sup>a</sup>	75.45±2.67 <sup>a</sup>	82.52±1.37 <sup>a</sup>	168.42±3.81 <sup>a</sup>
	III 72.40±1.43 <sup>bc</sup>	64.77±0.91 <sup>bc</sup>	50.57±2.35 <sup>c</sup>	105.10±1.87 <sup>c</sup>
	IV 77.93±1.10 <sup>ab</sup>	68.55±0.61 <sup>abc</sup>	64.55±1.25 <sup>b</sup>	123.88±3.56 <sup>b</sup>
	V 82.10±1.01 <sup>ab</sup>	71.57±1.25 <sup>ab</sup>	67.87±1.93 <sup>b</sup>	129.98±2.37 <sup>b</sup>
Mouse	I 76.38±2.91 <sup>b</sup>	90.07±4.84 <sup>b</sup>	59.82±2.65 <sup>c</sup>	108.25±4.16 <sup>bc</sup>
	II 128.34±5.60 <sup>a</sup>	123.37±4.14 <sup>a</sup>	78.75±2.67 <sup>a</sup>	141.50±4.25 <sup>a</sup>
	III 83.42±3.75 <sup>b</sup>	101.01±2.07 <sup>bc</sup>	61.00±5.62 <sup>c</sup>	104.30±3.94 <sup>c</sup>
	IV 112.36±3.90 <sup>a</sup>	106.85±4.07 <sup>abc</sup>	72.20±3.70 <sup>b</sup>	125.45±2.05 <sup>ab</sup>
	V 116.26±4.53 <sup>a</sup>	110.47±2.27 <sup>ab</sup>	71.67±2.71 <sup>b</sup>	130.65±3.71 <sup>a</sup>

Means in each column followed by common superscript letters are not significantly different at 5% level by DMRT.

- I : control, continuously feeding with basal diet
- II : Administration of ethyl alcohol at 5ml of 30% EtOH/kg/day for two days after feeding on basal diet.
- III : Administration of ethyl alcohol for two days after feeding with extract of fermented dropwort shoot grown on dry land at 10ml of 20% dilute/kg/day for 20 days.
- IV : Administration of ethyl alcohol for two days after feeding with extract of dropwort shoots grown on dry land at 10ml of 20% dilute/kg/day for 20 days.
- V : Administration of ethyl alcohol for two days after feeding with extract of dropwort shoots grown on flooded field at 10ml of 20% dilute/kg/day for 20 days.

그 결과 TC의 함량은 기본급여에 의해서 사육된 정상랫트가 64.96mg/dl 였는데 에탄올을 섭취한 경우 86.63mg/dl 까지 증가되었다. 그리고 발미나리 발효액과 추출물 또는 물미나리 추출물을 투여한 쥐에서는 발미나리발효액을 투여한 마우스에서

유의적으로 감소 되었으나 다른 처리에 있어서는 유의성이 인정되지 않았다. TG도 에탄올의 섭취에 의해서 증가되고 있음을 알수가 있다. 에탄올처리에 의한 TG의 증가는 랫트와 마우스 모두에서 인정되고 있다. 알콜처리에 의해서 증가된 TG는 발미나리발효액의 투여에 의해서 효과적으로 감소되고있으나 발미나리추출물과 물미나리추출물에 의한 효과는 유의성이 없는 것으로 나타나고 있다. 이와같이 대사적 현상은 다른연구자에 의해서도 지적되고 있다(Jaya et al., 1993; Kato et al., 1990). 즉 간세포의 triglyceride 함량변화는 알콜성 간장질환의 초기단계에 증가하는데 그 원인은 지방조직으로부터 간으로 이동되거나, 또는 대사적 이상변화에 의한 합성증가이며, 병적으로 간세포로부터 lipoprotein의 배출저하 때문에 일어난다는 보고(Lieber, 1981) 와 일치된결과라고 생각된다.

ALT는 무처리의 42.45U/L에서 에탄올투여에 의해서 82,52U/L 까지 증가하였다. 발미나리 추출물과 물미나리추출물의 투여에 의해서 유의성있게 감소하였으며 발미나리발효액의 처리는 발미나리나 물미나리추출물보다 훨씬많은 감소효과가 인정되고 있다. AST도 에탄올투여에 의해서 65%이상 상승했다가 물미나리추출물에 의해서 27%까지 감소되고 발미나리발효액투여에 의해서는 정상에 가깝게 낮아지는 효과를 나타내고 있다. AST, ALT는 간질환을 나타내는 대표적인 효소로서 정상치보다 높거나 낮으면 질환이 있음을 알수가 있는 효소이다(Jaya et. al., 1993; Kaur et al., 1994). 따라서 본 연구에서 2일동안 에탄올투여에 의해서 AST, ALT가 정상치보다 높게 나타난것은 알콜에 의해서 간장해를 받고 있는증상이라 할수있으며 미나리 발효액을 급여한 군에서 이 두 효소활성이 감소한 것은 미나리의 미지성분이 간에서 작용하고 있음을 시사하는것이라 할 수 있다.

랫트의 만성알콜중독을 유도하기 위하여 에탄올을 1~20% 까지 여러농도로 급수를 대신하여 투여하였다. 에탄올 5%까지는 급수대신사용에 의해서 1일 소모량에 차이가 없었으며 10%에탄올농도는 1일급수량의 5~10%정도 감소하고 사료소모량의 차이가 별로 많지 않았고, 15%에탄올농도부터는 급수량의 30%이상 감소하였고 체중이 줄며 사료

를 잘 먹지 않기 때문에 장기투여가 어려워 10%에 탄올농도를 장기투여 가능 농도로 사용하였다. (테이터생략) 일반적으로 알콜을 25-30%/5ml/kg정도로 6주이상투여에 의해서 만성알콜중독으로 평가하고 있다(김경수와 이명렬, 1996; 류선영과 김정희, 1995). 그림 1.은 랫트에 10개월동안 10%에 탄올을 투여한다음 1일 4회 20% 발미나리 발효액을 투여한군과 무처리로 증류수를 투여한군을 정상랫트와 비교한 결과이다. TC는 정상군은 64.95mg/dl인데 만성알콜중독에 의해서 88.83mg/dl까지 증가되었다. 그러나 처리 5일후 무처리군(증류수)에서는 함량이 86.2mg (3%)으로 감소한 반면에 발미나리발효액의 투여에 의해서 77.1mg/dl (14.5%)까지 감소되는 효과가 나타났다. 이것은 아직 정상군보다는 높은것이지만 만성에탄올군보다는 40%의 감소효과를 나타내고 있는 것이다. 그림1.의 두번째도식은 TG의 변화를 나타낸 것이다. 5일동안 물을투여한 무처리군은 9.5%자연감소가 이루어진 반면에 발미나리발효액의 급여에 의해서는 36.9%의 함량이 감소되었다. 이는 TG함량이 만성알콜중독에 의해서 정상군보다 68% 증가되었고 발미나리발효액의 투여 5일만에 에탄올투여군의 높아진 TG함량의 60%가 감소되었음을 나타내는 것이다. ALT와 AST는 10개월의 에탄올투여에 의해서 유도된 만성알콜중독에서 5일간의 물을 급이한 무처리군에서는 별로 자연감소가 나타나지 않았다. 그러나 발미나리발효액을 투여한 군에서의 ALT와 AST는 87.2%와 91.7%가 감소되어 거의 정상수준까지 낮아졌다. 이는 중독증상이 회복되어가는 과정임을 나타내는 징후로 보였다.

전술한바와 같이 발미나리발효액과 추출액의 알콜중독에 대한 회복효과를 알수있었기 때문에 이에대한 대사과정의 일부를 확인하기 위하여 몇가지 간질환관련 항산화효소의 활성을 조사하였다. 앞서와같이 랫트를 만성, 아급성, 급성알콜중독을 유발시킨다음 치유와 회복정도의 효과를 조사하였다. 즉 정상군에 에탄올처리군, 발미나리발효액만을 급여한군과 알콜과 동시에 발미나리발효액을 급여한군과 에탄올처리가 끝난다음 표2의 설명과 같이 일정시간 발미나리발효액을 처리한군의 AP,

Catalase, SOD, GSH-POD효소활성을 조사하였다(표2). 랫트의 에탄올처리군은 만성, 아급성, 급성 모든군에서 정상군에 비하여 상기 4가지효소활

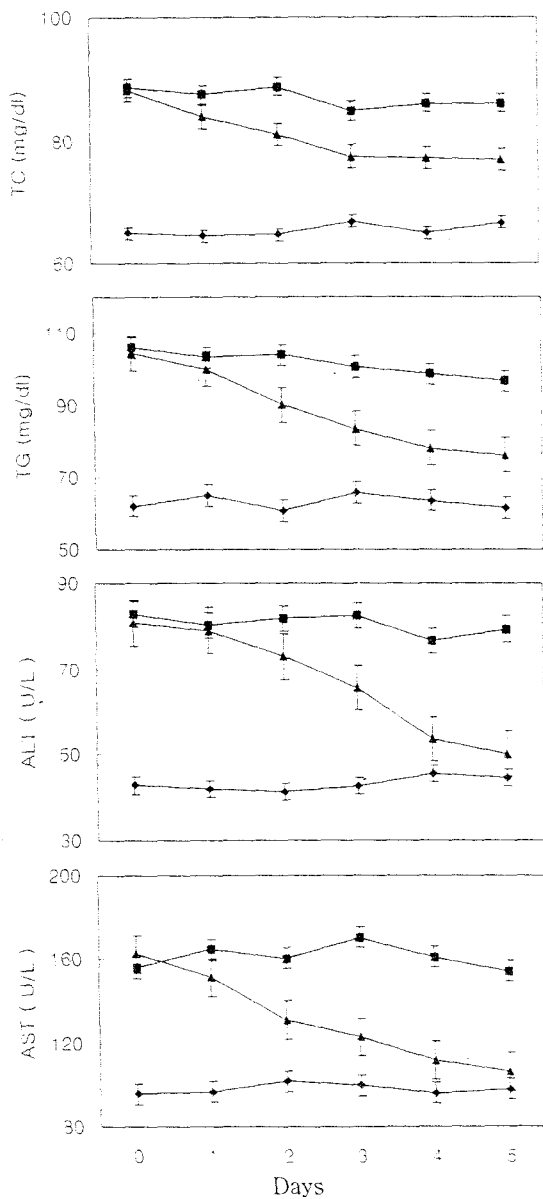


Fig. 1. Comparative levels of TC, TG, ALT and AST in normal rats (-) and those fed on water (-) or fermented dropwort extract (-) after administration of 10% alcohol for 10 months.

Table. 2. Effects of fresh and fermented dropwort (*Oenanthe stolonifera* DC) extract and ethanol on the activity of antioxidation related enzymes in the blood of ethanol toxicated rats.

	Alkaline phosphatase	Catalase	Superoxide dismutase	Glutathione peroxidase
	IU / dl	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> μM/mg protein/min.	U/mg protein	μM NADPH/mg protein
Control	49.95±2.09 <sup>dc</sup>	1.73±0.06 <sup>b</sup>	3.90±0.19 <sup>c</sup>	355.27±10.16 <sup>a</sup>
Chronic ethanol treatment	I 83.75±1.66 <sup>ab</sup>	3.09±0.12 <sup>a</sup>	7.89±0.20 <sup>a</sup>	207.10±15.31 <sup>b</sup>
	II 47.20±2.81 <sup>e</sup>	1.84±0.19 <sup>b</sup>	3.65±0.22 <sup>c</sup>	353.17±27.73 <sup>a</sup>
	III 75.68±2.58 <sup>b</sup>	2.65±0.26 <sup>ab</sup>	5.64±0.11 <sup>b</sup>	309.67±12.73 <sup>ab</sup>
	IV 60.22±1.64 <sup>c</sup>	2.81±0.18 <sup>ab</sup>	5.76±0.26 <sup>b</sup>	321.33±13.28 <sup>a</sup>
Subacute ethanol treatment	I 89.63±0.91 <sup>a</sup>	2.05±0.15 <sup>b</sup>	7.44±0.29 <sup>a</sup>	209.33±14.65 <sup>b</sup>
	II 43.33±2.91 <sup>e</sup>	1.85±0.17 <sup>b</sup>	3.81±0.26 <sup>d</sup>	394.00±11.59 <sup>a</sup>
	III 62.90±2.23 <sup>c</sup>	2.44±0.11 <sup>b</sup>	5.62±0.34 <sup>b</sup>	303.17±14.08 <sup>a</sup>
	IV 58.35±3.10 <sup>cd</sup>	1.98±0.17 <sup>b</sup>	5.20±0.08 <sup>bc</sup>	311.10±8.14 <sup>a</sup>
Acute ethanol treatment	I 74.35±2.67 <sup>b</sup>	2.16±0.14 <sup>b</sup>	7.69±0.26 <sup>a</sup>	179.27±22.99 <sup>b</sup>
	II 45.85±1.92 <sup>e</sup>	1.83±0.20 <sup>b</sup>	3.80±0.22 <sup>b</sup>	362.57±10.54 <sup>a</sup>
	III 60.25±1.17 <sup>c</sup>	2.20±0.12 <sup>b</sup>	5.43±0.21 <sup>c</sup>	304.00±8.56 <sup>a</sup>
	IV 50.80±1.13 <sup>de</sup>	2.10±0.07 <sup>b</sup>	5.54±0.23 <sup>c</sup>	305.60±13.90 <sup>a</sup>

Means in each column followed by common superscript letters are not significantly different at 5% level by DMRT.

Control : healy mouse taken neither ethyl alcohol nor dropwort extract.

Chronic ethanol treatment

- I : administration of ethyl alcohol at 5ml of 30% EtOH/kg/day for 10 months
- II : administration of fermented dropwort extract at 3ml of 20% dilute/day for 10 months.
- III : administration of EtOH and dropwort extract simultaneously for 10 months.
- IV : feeding dropwort extract at 3ml of 20% dilute / day for 7days after administration of 30% EtOH at 5ml/kg/day for 10 months.

Subacute ethanol treatment

- I : administration of ethyl alcohol at 5ml of 30% EtOH/kg/day for 10 days.
- II : administration of fermented dropwort extract at 3ml of 20% dilute/day for 10 days.
- III : administration of EtOH and dropwort extract simultaneously for 10days.
- IV : feeding dropwort extract at 3ml of 20% dilute / day for 2days after administration of 30% EtOH at 5ml/kg/day for 10 days.

Acute ethanol treatment

- I ; administration of ethyl alcohol at 5ml of 30% EtOH/kg/day for one day.
- II ; administration of fermented dropwort extract at 3ml of 20% dilute/day for 24 hours.
- III ; administration of EtOH and dropwort extract simultaneously for one day.
- IV ; feeding dropwort extract at 3ml of 20% dilute for 12 hours after administration of 30% EtOH at 5ml/kg/day for one day.

성이 유의적인 차이가 인정되었다. 그러나 발미나리발효액군의 투여에 의해서는 정상군과 거의 차이가 없었다. 다만 SOD 경우에만 정상에 비하여 약간의 감소를 나타내고 있었다. 이는 어떤 부작용도 없음을 시사하는결과이며 단지 장기 복용에 의해서 약간의 체중 증가가 인정되었을 뿐이다(데이터생략). AP는 에탄올과 발미나리발효액의 동시 급여보다는 에탄올급여 후 별도처리에 의해서 더 효과적임이 확인되었다. AP의 활성은 만성과 아급성이 급성보다 높게 나타났다. Catalase는 만성에 높게 나타났으며 정상군과 에탄올처리군 및 발미나리 발효액 처리군간에 효소활성의 차이는 확인되었으나 유의성은 없는 것으로 계산되었다. 또한 SOD는 급·만성간의 활성의 차이는 크게 나타나지 않은반면에 발미나리발효액의 처리가 알콜처리군과 비교하여 유의성이 인정되었으나 처리방법간에는 유의차가 없는 것으로 나타났다. GSH-POD활성은 급성이 만성과 아급성에 비하여 낮게 나타났고 에탄올처리군에서 활성이 감소한것으로 나타났다. 그러나 발미나리발효액의 급여에 의해서 활성이 다시 높아졌으며 처리방법간에는 큰차이가 없었다. GSH-POD활성은 만성알콜중독에서 에탄올 처리후 발미나리발효액 급여에 의해서 321.33±13.28μM NADPH/mg protein 으로서 정상군의 355.27±10.16μM NADPH/mg protein의수준으로 효소활성이 회복되어가고 있는 것으로 나타났다. AP는 신체의 모든부위에 분포되어있으며 에탄올 투여에 의한 cholestasis나 종양에 의해서 고도의 증가가 나타나며 간질환의 경우에 중등정도의 활성이 나타나고 초기간암에서 AP의 고분자 동위효소가 진단에 이용되고있다(Gutierrez et al., 1995; Jaya et al., 1993; Kaur & Nagpaul, 1994). 따라서 본 결과도 이와 같이 알콜의 중독에 의해서 AP가 증가되었으며 특히 발미나리발효액에 의해서 감

소, 즉 회복이 되고 있음이 확인되었다. Catalase 는 간에 가장 많이 존재하며 체내에서 지방의 자동 산화 및 유기물의 산화로 생긴 과산화수소를 분해 하는 주요 효소 중의 하나인데 정상군에 비하여 만성 알콜중독군에서 높게 나타난 것은 에탄올의 투여에 의해서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 와 같은 free radical의 생성이 높아졌기 때문에 이를 소거하기 위하여 활성이 높아지기 때문이라고 한다 (Kaur & Nagpaul, 1994; Sharma et al., 1991). 그러나 본 연구에서 catalase에 대한 미나리의 처리효과가 통계적으로 유의성이 인정되지 않은 것은 본 연구의 분석시료가 혈청으로서 직접 간조직세포를 분석하지 않았기 때문으로 보이며 이후 연구에서 검토가 필요할 것으로 생각되었다. SOD는 superoxide anion을 과산화수소로 전환시키는 효소로서 (Halliwell & Gutteridge, 1990) 생체에서 해독에 관여하는 주요 효소이다. 본 연구에서 알콜의 투여에 의해서 SOD활성이 증가한 것은 에탄올의 투여로 생성된 활성산소를 소거시키기 위한 현상으로 이해가 되며 발미나리 발효액의 처리에 의해서 감소의 경향을 보인 것은 SOD에의 직접 작용이라기 보다는 세포와 조직에 작용하여 비특이적으로 기질이 되는 활성산소의 증가억제에 기인한 결과라 보겠다. 일반적으로 GSH-POD는 GSH를 기질로 하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 소거시키는 기능적 측면에서 Catalase와 비슷한 계열의 효소이지만 (Jaya et al., 1993), 조직과 기관에 따라서 함량을 달리하고 있다 (Aykaç, 1985). GSH-POD의 활성은 에탄올의 처리에 의해서 감소하지만 발미나리 발효액의 일정시간 투여 후에는 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 처리간에 유의성은 인정되지 않았는데 이는 특이적인 효과라기 보다 발미나리 발효액이 free radical의 생성을 억제한 결과라고 생각된다. 따라서 발미나리 발효액은 알콜에 의해서 유도된 급만성장해에 대하여 유의적인 효과가 있음이 증명되었다.

## 적 요

미나리는 간을 보호하며 간질환을 예방, 치유하는 효능이 있는 기능성 식물로 인식되어 민간요법에 널리 이용되고 있다. 그래서 알콜을 랫트와 마우스

에 처리하여 만성, 아급성, 급성중독을 유도하고 발미나리 발효액과 추출물 그리고 물미나리추출물의 효과를 조사한 결과는 다음과 같다.

랫트와 마우스에 에탄올을 2일 동안 투여한 결과 total cholesterol과 total glyceride의 수치가 증가되었으며 20일 동안 발미나리 발효액과 추출물 그리고 물미나리추출물을 투여한 후 에탄올을 2일 동안 급여한군에서는 total cholesterol과 total glyceride의 감소 효과가 있었으나 처리간의 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 실험동물의 혈청중에 알콜에 의해서 높아졌던 alanine aminotransferase와 aspartate aminotransferase는 발미나리 발효액과 추출물에 의해서 감소되었으며 발미나리 발효액투여군에서 가장 많이 감소되어 처리간에 유의성이 인정되었다. 랫트에 10% 에탄올을 10개월간 투여하여 만성 알콜중독을 유발시킨 다음 5일 동안 물만 급여한군과 발미나리 발효액을 투여한군을 비교한바 total cholesterol은 40%, total glyceride는 60%의 감소 효과가 있었으며 alanine aminotransferase와 aspartate aminotransferase는 87.2%와 91.7%를 감소시켜 정상에 가깝게 회복시키는 효과가 인정되었다. alkaline phosphatase, catalase, superoxide dismutase 및 glutathione peroxidase의 활성은 알콜의 처리에 의해서 급만성 모두 유의적인 변동을 나타냈으며 발미나리 발효액의 처리에 의해서 alkaline phosphatase와 superoxide dismutase의 활성에 특히 유의적인 감소를 가져왔다. 이와 같은 결과는 물미나리보다 발미나리 발효액이 알콜성 간질환에 효능이 있음을 시사하는 것이라 하겠다.

## LITERATURES CITED

- Absolom, D. R. 1993. Basic methods for the study of phagocytosis. in methods in enzymol. Academic Press, Vol. 132, pp 95 - 180.
- Aebi, H. 1974. Catalase. in Methods of Enzymetic analysis. Vol, 2, ed. Bergmeyer, H. U., Verlag Chemie Weinheim, Academic Press, New York and London. p 673 - 1624
- Aykaç, G. 1985. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione

- peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.* 35. 71–76
- Gabuzda, G. J. 1958. Fatty liver in man and the role of lipotropic factors. *Ame. J. Clin. Nutri.* 6. 280–297.
- Gutierrez-Ruiz, M. C., L. Bucio, V. Souza, and A. Carabez. 1995. The effect of chronic and acute ethanol treatment on morphology, lipid peroxidation, enzyme activities and Na<sup>+</sup> transport systems on WRL-68 cells. *Human Experimental Toxicology* 14 (4). 324–334.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease. An overview, *Methods enzymology* Fleischer, S and Packer, L. (eds), Academic Press Inc. New York, 186. 1–85.
- Jaya, D. S., J. Augustine and V.P. Menon. 1993. Role of lipid peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in alcohol and drug toxicity. *Indian J. Med. Res.* 31 (5). 453–459.
- Kato, S., T. Kawase, J. Alderman, N. Inatomi, and C.S. Lieber. 1990. Role of xantine oxidase in ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Gastroenterol.* 98. 203–210.
- Kaur, J., J.P. Nagpaul, and A. Mahmood. 1994. Expression of brush border enzymes in ethanol fed rat intestine. *Indian J. Med. Res.* 100 : 289–294.
- Kim K. S and M. Y Lee. 1996. Effect of *Aremisia selengensis* menthanol extracton rthanolinduced hepatotxicty in rat liver *J. Kor. Soc. Sci Nutr.* 25 (4) : 581–587
- Lieber, C. S. 1981. Metabolic effects of ethanol on the liver and other digestive organs. *Clin. Gastroenterol.* 10. 315–342.
- Liu, S.J., R.K. Ramsey, and H.J. Fallon. 1975. Effects of ethanol on hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 24: 369–378.
- Lee, K. I., K. Y. Park and S. H Rhee. 1992. Antimutagenic effect of green-yellow vegetables toward aflatoxin B<sub>1</sub> and 4-nitroquinoline-1-oxide. *J. Korean Soc. Food Nutr* 21 (2). 143–148
- McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase; An enzymatic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244 : 6049–6055.
- Park, K. Y., K. I Lee and S. H Rhee. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on mutagenicity in salmonella asst system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J. Korean Soc. Food Nutr* 21 (2). 149–153.
- Park, J. C., Y. B. Yu, J. H Lee and N. J Kim. 1994. Studies on the chemical components and biological activiter of edible plants in Korea (VI) -anti-inflammatory and anlages effects of cedrela sinensis, oenanithe javanica and artemisia princeps var. orientalis-J *Korean Soc. FOOD Nutr* 1994. 23 (2). 116–119
- Rister, RhuM. and R.L. Baehner. 1976. The alteration of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NAD(P)H cytochrome c reductase in guinea pig polymorphonuclear leukocytes and alveolar macrophage during hyperoxia. *J. Clin. Invest.* 58. 1174–1184.
- Rubin, E. and C.S. Lieben. 1968. Hepatic microsomal enzymes in man and rats : Induction and inhibition by ethanol. *Science*, 162. 690–691.
- Ryu, S.Y. and J.H Lee. 1995. Effect of chronic alcoholfeeding and 2-Acetylaminofluorene treatment on hepatic metocondrial ATPase activity and membrane lipid composition in rats . *J. Korean Soc. Sci Nutr* 24 (6). 867–873.
- Sharma, G., R. Nath, and K.D. Gill. 1991. Effect of ethanol on Cd-induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* 42. sup. 9–16.