

# 갈근, 갈화, 갈근과죽력의 추출물이 알코올을 투여한 생쥐에 미치는 영향

김경수, 정종길, 나창수, 김정상  
동신대학교 한의과대학

## Effects of *Radix Puerariae*, *Flos Puerariae* and Bamboo+*Radix Puerariae* Water Extracts on the Ethanol-administered Mice

Kyung-Soo Kim, Jong-Kil Jung, Chang-Su Na, Kim Jeong-Sang  
College of Oriental Medicine, Dongshin University

This study was performed to investigate the effects of *Radix Puerariae* (RP), *Flos Puerariae* (FP) and *Caules in Liquamen Phyllostachyos*+*Radix Puerariae* water extracts on the alcohol dehydrogenase (ADH), transaminase (GOT, GPT) activities, and two hepatic antioxidant enzyme (SOD, catalase) activities in acute ethanol administered mice, and we have investigated the morphological changes that occur in hepatocytes of the experimental mice.

The activities of ADH decreased compared with control group in the A1(66%), C1(57%), C2(54%) groups. The transaminase activities increased in the control groups compared with experimental groups. Ethanol treatment group without the RP or FP administration significantly lowered the activities of hepatic SOD and catalase, whereas MnSOD increased in the A1(27%) and B2(43%) groups, CuZnSOD increased in the B2(25%) and C2 groups. The catalase activities were increased in the A1(270%), A2(478%), B2(487%) and B1(770%) compared with control group. A lot of PAS-positive granules were observed in the A1, A2, C1 and C2 groups compared with the other groups.

These results suggested that RP, FP and RP+Bamboo extracts administration may be prevent from liver damage in the alcohol treatment mice.

Key word : *Radix Puerariae*, *Flos Puerariae*, Bamboo extract+*Radix Puerariae*, transaminase, antioxidant enzyme, AS-immunohistochemistry

교신저자 : 김정상  
전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학 해부학교실  
Tel : 061-330-3512 E-mail : jskin@red.dongshinu.ac.kr  
접수 : 2002/6/10 수정 : 2002/6/15 채택 : 2002/6/20

\* 본 연구는 농림기술개발연구과제 (관리번호 200017-3)의 지원에 의하여 수행되었음.

## 서 론

알코올 의존은 경제적, 사회적, 의학적 결과를 동반하는 심각한 질환이다. 알코올 의존 환자의 치료나 알코올의 유해성으로부터 보호받기 위한 약물 개발은 중요한 연구 분야 중 하나로, 최근 숙촉해소와 관련된 한약재나 기능성의 음료의 개발에 대하여 많은 관심이 집중되고 있다.

알코올은 소화관에서 흡수되어 2~10%가 신장과 폐를 통해서 배설되며 나머지는 주로 간에서 산화된다<sup>1)</sup>. 에탄올의 섭취는 간세포의 세포사멸을 약 5배정도 증가시키며, 간세포는 미토콘드리아의 산화적 스트레스를 받게되고 Kupffer 세포의 활성화, cytokine 생산, 호중구의 침윤등이 나타난다<sup>3)</sup>. 에탄올 대사는 간뿐만 아니라 다른 조직들에서 산화적 스트레스와 지질과산화의 원인이 되어 급성적인 에탄올 투여가 생쥐의 뇌, 심장, 골격근 그리고 간의 mtDNA의 활성화에 영향을 미친다고<sup>4)</sup> 하였다.

한의학적 문헌에 보면 酒傷症에는 解酒毒에 효능이 있는 葛根(*Radix puerariae*)과 葛花(*Flos puerariae*)를 主材로 응용하여 왔다. 갈근의 추출물인 daidzin이나 daidzein을 Syrian golden hamster에 투여하였을 경우 알코올의 자발적 섭취를 감소시키며<sup>5)</sup> 알코올 의존환자들에게 갈근 추출물을 투여한 결과 알코올 갈망이 감소되고, 또한 음주 후에 유발되는 알코올 갈망의 증가를 차단할 것이라고 하였다<sup>6)</sup>. 갈근 추출물을 흰쥐에 투여한 결과 간조직에서 과산화지질함량과 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase(AST)의 활성화에 미치는 영향에 관한 연구를 하였다<sup>7)</sup>. 급성 알코올 중독에 대하여 갈근의 투여가 GOT와 GPT의 활성을 억제하였고<sup>8)</sup> 근과 갈화의 물 추출물이 에탄올을 투여한 흰쥐 간의 항산화효소와 mRNA 발현의 활성화에 영향을 미치었다고 하였다<sup>9)</sup>.

본 연구에서는 급성 알코올 투여에 대한 갈근, 갈

화 추출액 그리고 갈근과 려의 전 투여와 후 투여가 생쥐의 간 기능 및 혈중 알코올 농도에 미치는 영향을 규명하고자, 혈청의 알코올 농도 변화, GOT와 GPT의 검색, 간 조직의 항산화효소 활성화 및 PAS-조직화학적 염색을 하여 간 기능의 변화에 따른 형태학적인 변화를 규명하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1) 실험 동물

체중 25g내외의 응성 생쥐(ICR strain)를 다물사이언스(주)로부터 구입한 후 한의과대학 동물사육실에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2) Alcohol, 갈근, 갈화 및 족력+갈근 추출액 투여

실험동물은 ethanol을 투여한 다음 생리식염수를 투여한 대조군, 갈근 추출물 (1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군(A1 군)과 ethanol을 투여한 다음 30분 후에 동일한 양의 갈근 추출물을 투여한 실험군(A2 군), 갈화 추출물 (1g/kg body weight, B1 군)을 투여한 다음 동일한 양의 ethanol을 투여한 실험군 (B1 군)과 ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물을 투여한 실험군(B2 군), 갈근 추출물 (1g/kg body weight)+족력(3ml/kg)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 투여한 실험군(C1 군)과 ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 약물을 투여한 실험군 (C2 군)으로 구분하였다.

모든 실험군은 ethanol을 투여한 다음 2시간 후에 채혈하여 GOT와 GPT 활성 및 혈중 알코올 농도를 측정하였으며, 간조직을 분리하여 조직학적 변화 및 항산화효소의 활성을 검색하였다.

### 3) 혈중 알코올 농도

ADH의 활성도는 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 다음 알코올 반응 혼합액(Glycine Buffer Reagent, Sigma co.) 3ml에 혈청 10 $\mu$ l를 가한 다음 spectrophotometer를 사용하여 340nm에서 흡광도를 측정하여 알코올 농도로 환산 하였다.

### 4) Transaminase(GOT & GPT) 활성도

생쥐를 마취하여 채혈한 다음 GOT와 GPT 효소 활성도의 측정은 kit시약을 사용하여 측정하였다. GOT 또는 GPT 기질을 1ml 씩 시험관에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 배양한 후 증류수로 10배 희석한 혈청 0.2ml 씩을 시험관에 가한 후 37 $^{\circ}$ C 수용상에서 GOT의 경우 60분, GPT의 경우 30분간 반응시킨 후 반응시약인 2,4-dinitrophenylhydrazine을 1.0ml씩 첨가하고 실온에서 20분간 방치한 다음 NaOH를 넣어 반응을 중지시켰다. 30분 후에 505nm에서 증류수를 맹검으로 하여 표준액, 검액 및 대조군의 흡광도를 측정하여 표준액의 검량 곡선으로부터 효소의 활성 단위를 환산하여 비교 관찰하였다.

### 5) 생쥐 간조직으로부터 SOD 추출 및 활성도 측정

대조군과 실험군 생쥐로부터 간조직 만을 신속히 분리하여 SOD를 추출 하였다. 채취된 간조직은 증류수로 3회 세척한 후 0.1mM EDTA와 50mM phosphate buffer(pH 7.8)를 간조직 시료의 4 배량으로 첨가하여 세척한 다음 균질액을 얻기 위하여 homogenizer(JANKE & KUNKEL, ULTRA-TURRAX T25, Germany)를 이용하여 4 $^{\circ}$ C에서 균질화 하였다. 이 균질액으로부터 핵 분해를 제거하기 위해 4 $^{\circ}$ C에서 2,000xg로 5분 동안 원심분리하였으며, 다시 4 $^{\circ}$ C의 22,000xg에서 30분 동안 원심분리하여 세포질 분획과 미토콘드리아 분획으로 분리하였

다. 분리된 분획 중 상층액만을 조심스럽게 제거한 후 순수 분리를 위해 16,000xg에서 10분동안 원심분리하여 순수 CuZnSOD를 얻었으며, 이 조효소액을 단백질 분석에 이용하였다. 미토콘드리아에 분포하는 MnSOD를 얻기 위해 전단계에서의 pellet에 50mM phosphate buffer(pH 7.8), 0.25M sucrose, 0.1mM EDTA 용액 1ml를 첨가하여 부유시킨 다음 4 $^{\circ}$ C에서 22,000xg로 30분 동안 원심분리하여 상층액을 분리한 후 다시 80,000xg로 30분간 원심분리하여 순수한 MnSOD를 얻었다. 단백질 정량은 Bio-Rad assay를 이용하였으며, -70 $^{\circ}$ C의 deep freezer에 보관하면서 실험에 이용하였다.

분리된 단백질에서 SOD의 활성도를 측정하기 위해 정량한 단백질 100 $\mu$ g/ $\mu$ l를 non-denaturing polyacryamide gel electrophoresis를 이용하여 4 $^{\circ}$ C의 저온 상태에서 30 mA로 전기영동하였다. SOD 활성도를 측정하기 위해서는 Beauchamp과 Fridovich (1971)의 방법을 이용하였으며, gel은 0.05M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 7.8), 1 $\times$ 10<sup>-4</sup>M EDTA, 2.45  $\times$ 10<sup>-3</sup>M NBT를 포함한 용액에서 알루미늄 호일을 덮어 계속 흔들며 주면서 20분 동안 염색하였다. 다시 gel은 0.05M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>(pH 7.8), 1 $\times$ 10<sup>-4</sup>M EDTA, 0.028M TEMED, 2.8 $\times$ 10<sup>-5</sup>M riboflavin 용액에서 15분동안 2차 염색한 후 15W 형광램프 하에서 단백질 band를 확인하였으며, 그 결과는 densitometer(ImageMaster VDS, Pharmacia)를 이용하여 분석하였다.

### 6) 생쥐의 간조직으로부터 catalase의 추출 및 활성도 분석

Catalase 활성도 측정은 Aebi의 방법<sup>10)</sup>준하여 50mM 인산칼슘 완충액(pH 7.2)에 기질인 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 효소액을 가하여 최종 반응액이 3.0ml이 되게한 다음 25 $^{\circ}$ C에서 30초간 반응시키면서 240nm 파장에서 소실되는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양을 측정하였다. 이 효소 활성도의 단위는 1분간에 1 mg의 단백질이 반응하여 환원시킨 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 u mole로 나타내었다.

### 7) 광학현미경 관찰

생쥐의 간 조직을 적출하여 4%의 paraformaldehyde를 사용하여 24시간 동안 고정시킨 다음, 조직을 paraffin으로 포매한 후 microtome을 사용하여 5 μm 두께로 절편하였다. 절편한 조직을 slide glass 위에 부착시킨 다음 이를 xylene에서 100%, 90%, 80% ethanol 과 같이 농도가 낮아지는 순으로 5분씩 담구어 paraffin을 제거하였다. paraffin을 제거한 후 Hematoxylin-Eosin (H-E)염색과 Periodic acid-Schiff (PAS) 염색을 하였다. 카메라 현미경(Olympus, BX51TF)으로 검색한 후 사진 촬영을 하였다.

## 결 과

### 1) 혈중 알코올 함량

각 실험군과 대조군의 혈청 에탄올 함량은 표 1과 같다. 혈청 중 알코올의 함량은 대조군(318.66 ± 9.92)에서 가장 높게 나타났다. 알코올의 함량은 갈근 투여군, 갈화투여군 그리고 갈근과 죽력을 혼합하여 투여한 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다. 갈근 추출액을 투여한 다음 에탄올을 투여한 A1군(141.21 ± 10.24 < 0.005)은 대조군에 비하여 약 66% 감소하였으며, 갈근과 죽력을 혼합투여한 실험군에서는 C1군(57%)과 C2군(54%) 모두 유의성있게 감소하였다.

Table 1. The changes of alcohol content according to groups.

Groups	No. of animals	Alcohol(mg/dl)	P-value
Con.	7	318.80 ± 19.67	
Exp. A1	7	141.21 ± 10.24	0.00
Exp. A2	7	157.88 ± 13.47	0.00
Exp. B1	7	221.47 ± 9.36	0.00
Exp. B2	7	214.39 ± 18.58	0.00
Exp. C1	7	138.25 ± 11.49	0.00
Exp. C2	7	148.32 ± 14.83	0.00

Con, alcohol administered group; A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment; A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment

### 2) GOT와 GPT의 활성

Glutamate-oxaloacetate transaminase(GOT)의 활성 결과를 표 2에 정리하였다. 혈청중에 존재하는 GOT의 활성은 에탄올을 구강 투여한 다음 2시간 후에 측정된 결과 대조군에 비하여 갈근을 투여한 A2군과 갈화를 투여한 B1군에서는 유의성있게 감소하였으나, 갈근을 투여한 A1군과 갈화를 투여한 B2군에서는 오히려 증가하였다. 갈근과 죽력을 혼합하여 투여한 실험군에서는 C1과 C2군 모두 다소 감소하였으나 유의성은 없었다.

Table 2. The changes of GOT activities according to groups.

Groups	No. of animals	GOT(mg/dl)	P-value
Con.	7	158 ± 3.83	
Exp. A1	7	164 ± 14.93	0.76
Exp. A2	7	82 ± 16.60	0.00
Exp. B1	7	60 ± 12.86	0.00
Exp. B2	7	190 ± 15.34	0.09
Exp. C1	7	128 ± 12.44	0.06
Exp. C2	7	131 ± 27.79	0.15

Con, alcohol administered group; A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment; A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment

Glutamate pyruvate transaminase(GPT)의 활성은 표 3에 정리하였다. 대조군(67±6.64)의 혈청 중 GPT의 활성이 실험군에 비하여 가장 높게 나타났다. GPT의 활성은 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였으며, 특히 알코올을 전투여한 다음 갈근을 투여한 A2군과 동일한 방법으로 알코올을 전투여한 다음 갈화 추출액을 투여한 B2군에서 가장 낮게 나타났다.

Table 3. The changes of GPT activities according to groups.

Groups	No. of animals	GPT(mg/dℓ)	P-value
Con.	7	67±6.64	
Exp. A1	7	39±10.75	0.02
Exp. A2	7	20±2.49	0.00
Exp. B1	7	51±5.79	0.02
Exp. B2	7	20±5.47	0.00
Exp. C1	7	39±3.54	0.00
Exp. C2	7	51±8.49	0.01

Con, alcohol administered group; A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment;

A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment

### 3) SOD 활성

대조군과 실험군 간의 항산화효소인 superoxide dismutase(SOD)의 활성을 검색 결과는 표 4에 정리하였다. MnSOD의 활성은 갈근추출액 투여군 중 A1군이 약 27% 활성 증가를 나타냈으며, 특히 에탄올을 전처리한 다음 갈화추출액을 투여한 B2군에서 가장 높아 약 43%의 활성증가를 보였다. A2군과 C2군은 대조군에 비하여 다소 낮게 나타났다. CuZnSOD의 활성은 갈근 추출액 투여군은 대조군에 비하여 다소 낮은 활성을 보였으나, 갈화 추출액 투여군인 B2군은 대조군에 비하여 약 25%의 활성증가를 보였으며, C2군에서도 다소 높은 활성을 보였다(Table 4 & Fig. 1).

Table 4. The pixel numbers of SOD activities from the mice.

SOD \ Group	MnSOD	CuZnSOD
Con.	29,785±	181,279±
Exp. A1	37,835±	178,976±
Exp. A2	23,345±	165,816±
Exp. B1	28,980±	181,937±
Exp. B2	42,665±	227,997±
Exp. C1	35,199±	184,288±
Exp. C2	26,003±	202,289±

Con, alcohol administered group; A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment; A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment; Numerals indicates pixel numbers.

A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment; A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment.

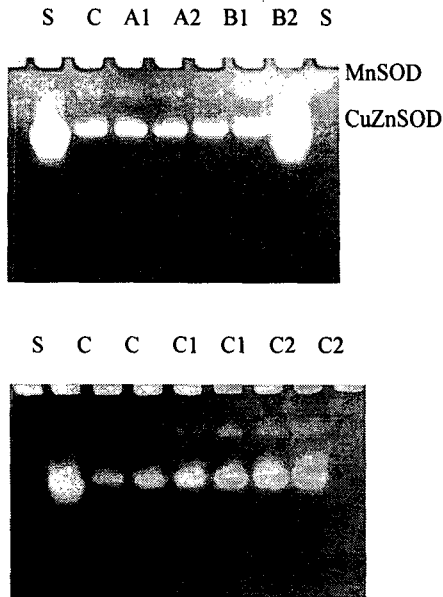


Fig. 1. Non-denaturing PAGE for SOD activity in the liver of mice treated with Radix Puerariae (RP) or Flos Puerariae (FP) extracts. Each lane was loaded with 10 $\mu$ g of protein. S, standard SOD; C, control group;

#### 4) Catalase의 활성

Catalase의 활성 결과는 표 5에 정리하였다. 전반적으로 catalase의 활성은 대조군에 비하여 모든 실험군에서 증가하였다. A1군은 약 270%, A2군은 약 478%, B2군은 약 487%, 특히 갈화추출액을 전투여한 다음 30분 후에 에탄올을 투여한 B1군에서 가장 높은 약 770% 효소활성 증가를 보여주었다. 갈근추출액과 렉을 투여한 C1군과 C2군에서도 대조군에 비하여 효소 활성이 높게 나타났다.

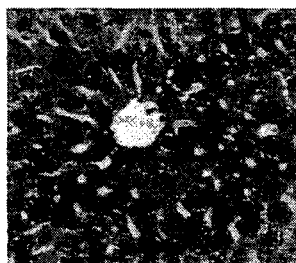
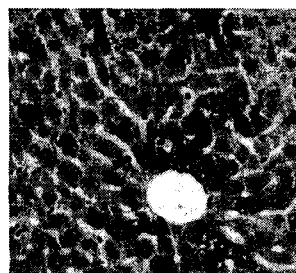
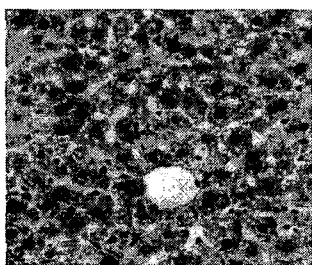
Table 5. Activities of catalase in mice liver, catalase activities( $\mu$  mol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduced/mg protein/30 sec)

Groups	catalase activities
Con.	1.38 $\pm$
A1	6.60 $\pm$
A2	3.72 $\pm$
B1	6.72 $\pm$
B2	10.62 $\pm$
C1	3.22 $\pm$
C2	3.90 $\pm$

Con, alcohol administered group; A1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment; A2, group from administered RP to mice following alcohol pretreatment; B1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. B2, group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; C1, group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; C2, group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment.

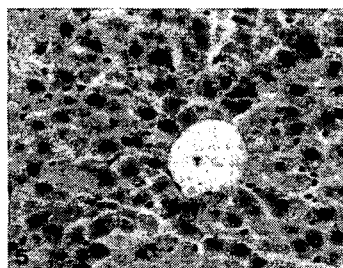
### 5) 간조직의 광학현미경 관찰

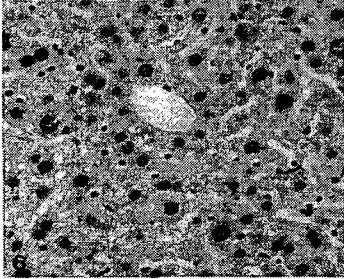
Ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 생리식염수 0.1ml을 투여한 대조군 생쥐의 간 조직에서는 중심정맥을 중심으로 PAS-양성 과립들이 미약하게 관찰되었다(Fig. 2). 대조군과 동일량의 ethanol을 경구 투여한 후 갈근 추출물 (0.02g/kg body weight)을 투여한 A2 군의 간 조직은 중심정맥을 중심으로 PAS-양성반응이 강한 간세포들이 집중적으로 관찰되다가 중심정맥에서 멀어질수록 PAS-양성반응은 점차 미약하게 나타났다(Fig. 4). A2 군과 동일량의 갈근 추출물을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 경구 투여한 A1 군의 간 조직에서도 A2군과 유사한 소견을 보여주어 중심정맥 주변 간 조직들이 PAS-양성반응을 강하게 보여주었다(Fig. 3).



Light micrographs of liver. Fig. 2, alcohol administered control group; Fig. 3, A1 group from administered RP to mice following alcohol pretreatment, A lot of PAS-positive granules are observed; Fig. 4, A2 group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP pretreatment. hepatocytes contain a lot of PAS-positive granules; PAS-stain,  $\times 200$ .

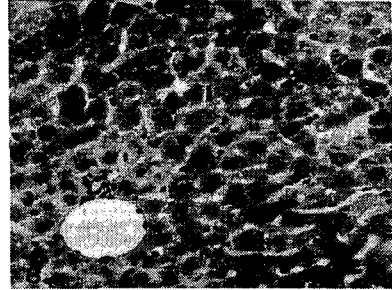
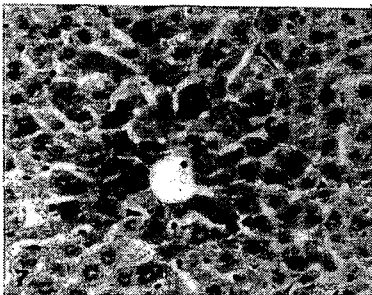
Ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물(0.08 g/kg body weight)을 투여한 B2 군(Fig. 6)과 갈화 추출물을 투여한 다음 ethanol을 투여한 B1 군(Fig. 5) 모두의 간조직에서는 PAS-양성 과립들이 거의 관찰되지 않았다.





Light micrographs of liver. Fig. 5, B1 group from administered with FP to mice following alcohol pretreatment; Fig. 6, B2 group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following FP pretreatment. PAS-stain,  $\times 200$ .

갈근+축력을 투여한 다음 ethanol을 경구 투여한 C1군에서는 간의 중심정맥을 중심으로 PAS-양성과립들이 집적되어 있으며, 중심정맥에서 멀어질수록 반응의 정도는 점차 미약하였다(Fig. 7). Ethanol을 먼저 투여한 다음 갈근과 력을 투여한 C2군에서 문맥가지의 주변 간세포에서는 PAS-양성과립들이 아주 미약하게 관찰되었으나 멀어질수록 점차 많은 PAS-양성과립들이 관찰되었다(Fig. 8).



Light micrographs of liver. Fig. 7, C1 group from administered with ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight) to mice following RP+bamboo extract pretreatment; Fig. 8, C2 group from administered RP+bamboo extract to mice following alcohol pretreatment. PAS-stain,  $\times 200$ .

## 고찰

에탄올의 대사는 간에서 일어나며, 에탄올 산화효소인 alcohol dehydrogenase (ADH)나 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 NAD의 소모가 증가되고 그 결과 NADH의 과잉 생성이 초래된다<sup>11)</sup>. 에탄올에 의한 간 손상은 에탄올의 산화과정 중 중간 대사산물인 acetaldehyde의 축적이 미토콘드리아의 기능을 저하시킬 수 있으며, 지질과산화물이 에탄올 대사의 부산물로써 간 조직 손상의 원인이 될 수 있다. 아급성적으로 알코올을 섭취하였을 때 acetaldehyde를 대사시키는 ALDH의 활성이 감소되어 체내에 acetaldehyde가 축적되고 생체는 심한 손상을 받게 된다<sup>12)</sup>.

Lin et al<sup>13)</sup>은 갈근의 성분중 하나인 daidzin을 과 함께 동물의 위장관에 투여하였을 경우 혈중알코올 농도는 에탄올을 단독투여 한 대조군에 비하여 최고 점이 나중에 나타났을 뿐만 아니라 더 낮게 나타났으며, 혈중 알코올농도의 감소 속도도 대조군에 비



하여 느리게 일어났다고 하였다. 그러나, 갈근의 추출물속에 포함된 3 isoflavones인 puerarin, daidzin, daidzein은 흰쥐의 간에서 알코올대사효소의 활성화에는 영향을 미치지 않으며, 단지 daidzin은 위에 저류되어 있는 시간을 지연시킴으로써 혈중 알코올농도가 급격히 상승하는 것을 억제할 수 있었다고 하였다. Kim et al<sup>14)</sup>은 29일간 갈근 분말 10g를 아침과 저녁에 각 5g씩 2회 복용하도록 한 알코올 의존 환자에게 25% 소주(6ml/kg)를 섭취하게 한 다음 알코올의 농도를 측정된 결과 혈중 알코올 농도와 갈근의 투여와의 상관성이 없었다고 하였지만, Lee와 Kim<sup>15)</sup>은 흰쥐 간조직에서 ADH 활성은 에탄올 단독 투여군 보다 에탄올과 갈근 추출액을 동시에 투여한 군에서 높게 나타났다고 하였다. Kim et al.<sup>7)</sup>은 갈근 추출물을 제한 없이 식이 하도록 하면서 5주동안 25% ethanol을 1일 1회 투여한 결과 alcohol dehydrogenase의 활성은 알코올 단독 투여군이 갈근추출액을 5주동안 투여한 군보다 하였다.

본 연구의 결과 혈중 알코올의 함량은 대조군(318.66±9.92)에서 가장 높게 나타났으며, 알코올의 함량은 갈근 투여군, 갈화투여군 그리고 갈근과 죽력을 혼합하여 투여한 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다. 특히, 갈근 추출액을 투여한 다음 에탄올을 투여한 A1군(141.21±10.24<0.005)은 대조군에 비하여 약 66% 감소하였으며, 갈근과 죽력을 혼합투여한 실험군에서는 C1군(57%)과 C2군(54%)모두 유의성있게 감소하였다.

Woo et al.<sup>8)</sup>은 갈근이 알코올을 투여하여 손상된 흰쥐의 간에서 GOT와 GPT의 활성화에 유의성있는 억제 작용을 보였다고 하였다. 본 실험에서도 GOT의 활성은 에탄올을 구강 투여한 다음 2시간 후에 측정된 결과 대조군에 비하여 갈근을 투여한 A2군과 갈화를 투여한 B1군에서는 유의성있게 감소하였으며, 갈근과 죽력을 혼합하여 투여한 실험군에서는 C1과 C2군 모두 다소 감소하였다. GPT의 활성은

대조군이 실험군에 비하여 가장 높게 나타났다. GPT의 활성은 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였으며, 특히 알코올을 전투여한 다음 갈근을 투여한 A2군과 동일한 방법으로 알코올을 전투여한 다음 갈화 추출액을 투여한 B2군에서 가장 낮게 나타났다. 이와 같은 결과로 보아 간 기능의 보호에 다소 효과가 있을 것으로 사료되었다.

Wheeler et al<sup>3)</sup>은 알코올로 유발된 간 손상과 함께 산화적 스트레스를 입은 흰쥐에 Mn-SOD 재조합 adenovirus를 투입하였을 경우 간세포에서 Mn-SOD의 발현과 활성이 거의 3 배정도 증가하는 것으로 보아 mitochondria가 중요한 역할을 한다고 하였다. 또한 알코올로 유발된 간 조직은 간세포 미토콘드리아의 산화적 스트레스를 받게되고, Kupffer cell 활성, cytokine 생산, 호중구의 침윤 등을 동반하였다고 하였다.

Lee et al<sup>9)</sup>은 갈근과 갈화의 물 추출물이 ethanol을 투여한 흰쥐 간의 항산화효소 활성과 mRNA 발현에 미치는 영향을 연구한 결과, 에탄올을 투여한 흰쥐에 갈근과 갈화를 투여한 실험군에서 Cu/Zn SOD와 catalase의 활성이 유의성 있게 증가하였고, GSH-Px(glutathione peroxidase)활성은 유의성 있게 감소하였으며, 간의 지질과산화(malondialdehyde)도 대조군에 비하여 낮았다고 하였다. Koch et al<sup>16)</sup>은 만성적 알코올중독에 따른 간 손상의 병원성의 기작을 밝히기 위하여 잠기적으로 ethanol을 투여한 쥐에 vitamin E 정도를 달리한 식이를 하여 MnSOD의 활성과 mRNA의 조절에 미치는 영향을 조사한 결과 에탄올을 투여한 군에서 MnSOD 유전자 발현은 증가하였으나 효소 활성은 vitamin E가 결핍된 실험군에서 만 증가하였다. Kim et al<sup>7)</sup>은 SOD활성은 에탄올 단독 급여군이 에탄올-갈근 급여군보다 증가하였고, catalase의 활성은 에탄올-갈근 급여군이 에탄올 단독 급여군에 비하여 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의성은 없었다고 하였다.

Abdellah<sup>4)</sup>은 급성적인 위장관내 에탄올 투여가

생쥐의 뇌, 심장, 골격근 그리고 간의 mtDNA에 미치는 영향을 연구한 결과, 에탄올 대사는 간뿐만 아니라 다른 조직들에서 oxidative stress와 지질과산화의 원인이되어, 설치류에서 산화적분해와 간의 mtDNA의 결핍 원인을 밝혔다.

또한 에탄올 대사는 뇌, 심장, 골격근의 미토콘드리아 genome의 산화적분해의 원인이 된다고 하였다. 알코올을 투여한 생쥐에서 항산화제는 이들의 영향을 억제한다고 하였다. 본 연구에서는 대조군과 실험군 간의 MnSOD의 활성은 갈근추출액 투여군 중 A1군이 약 27% 활성 증가를 나타냈으며, 특히 에탄올을 전처리한 다음 갈근추출액을 투여한 B2군에서 가장 높아 약 43%의 활성증가를 보였다. CuZnSOD의 활성은 갈화 추출액 투여군인 B2군은 대조군에 비하여 약 25%의 활성증가를 보였으며, C2군에서도 다소 높은 활성을 보였다.

Catalase의 활성은 대조군에 비하여 모든 실험군에서 증가하였다. A1군은 약 270%, A2군은 약 478%, B2군은 약 487%, 특히 갈화추출액을 전투여한 다음 30분 후에 에탄올을 투여한 B1군에서 가장 높은 약 770% 효소활성 증가를 보여주었다. 갈근추출액과 죽력을 투여한 C1군과 C2군에서도 대조군에 비하여 효소 활성이 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 보아 갈화 추출액에 비하여 갈근 추출액과 갈근+죽력 추출액 투여가 알코올의 급성 투여에 의한 간 손상으로부터 보호 또는 회복 기능이 있는 것으로 사료되었다.

Wheeler et al.<sup>3)</sup>은 에탄올에 의한 간세포의 세포사멸은 약 5 배정도 증가하였다고 하였으며, Burk et al.<sup>17)</sup>은 알코올 투여에 의한 혈장 alanine aminotransferase(ALT)활성이 상승하는 것은 간세포의 괴사가 일어나고 있음을 시사한 것이라고 하였다. Kim et al.<sup>7)</sup>은 간조직에서 ALT와 AST의 활성은 에탄올 단독투여군에서 가장 높게 나타나며 에탄올과 갈근 추출물을 투여한 군에서는 유의성있게 감소하였다고 하였다. 또한 Rifkin 등<sup>18)</sup>은 정상 흰쥐에서

는 glucose의 72%가 glycogen 으로 합성되었으나 장기간 알코올을 섭취시킨 쥐에서는 glycogen 합성이 약 30%정도로 낮아졌다고 하였다. Marco<sup>19)</sup>은 심한 미세구조적 손상이 먹이를 주지않은 흰쥐의 미토콘드리아에서 재관류하는 동안에 관찰되었다. 절식은 흰쥐의 간에서 ischemia-reperfusion 시킨 것 보다 심한 사람체의 산화적 손상과 관련이 있으며, 산화적 손상 정도는 절식 기간이 증가할수록 산화적 손상 정도도 증가하였다.

본 연구 결과 대조군 생쥐의 간 조직에서는 중심정맥을 중심으로 PAS-양성 과립들이 미약하게 관찰되었으나, 갈근 추출물을 투여한 A1 군과 A2 군, 갈근과 죽력을 투여한 C1과 C2군에서는 간 조직은 중심정맥을 중심으로 PAS-양성반응이 강하게 나타나는 것으로 보아 간의 기능 중 하나인 glycogen의 저장 능력이나 갈근에 함유되어 있는 당분의 저장에 의한 것으로 생각되었다. 이와 같은 결과는 간기능 보호효과와 관련성이 있을 것으로 생각되었다.

## 결 론

갈근과 갈화의 추출물이 급성 알코올 중독 생쥐에 미치는 영향 밝히기 위하여, 혈중 알코올 농도, GOT와 GPT, 항산화효소인 SOD와 catalase 활성을 측정하였으며, 간조직의 조직화학적 변화를 관찰하기 위하여 PAS-염색에 의한 형태학적인 변화를 관찰하였다.

- 1) 혈중 알코올 함량은 대조군이 가장 높았으며, 갈근 추출물 (1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군(66%), 갈근 추출물(1g/kg body weight)+죽력(3ml/kg)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 투여한 실험군(57%), ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 갈근과 죽력의 추출물을 투여

한 실험군(54%)은 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.

- 2) GOT의 활성은 대조군에 비하여 갈근 추출물(1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군과 ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물을 투여한 실험군에서는 유의성있게 감소하였으며, 갈근 추출물(1g/kg body weight)과 축력(3ml/kg)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 투여한 실험군과 ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 갈근과 축력을 투여한 실험군 모두 약간 감소하였다. GPT의 활성은 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다.
- 3) MnSOD의 활성은 갈근 추출물(1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군(27%)과 ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물을 투여한 실험군(43%)에서 가장 높은 활성증가를 보였다. CuZnSOD의 활성은 ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물을 투여한 실험군(25%)과 ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 갈근과 축력을 투여한 실험군에서도 다소 높은 활성을 보였다. Catalase의 활성은 갈근 추출물(1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군(270%), ethanol을 투여한 다음 30분 후에 동일한 양의 갈근 추출물을 투여한 실험군(478%), ethanol을 투여한 다음 갈화 추출물을 투여한 실험군(487%), 특히 갈화 추출물(1g/kg body weight, B1 군)을 투여한 다음 동일한 양의 ethanol을 투여한 실험군(770%) 효소활성 증가를 보여주었다. 갈근 추출물(1g/kg body weight)+축력(3ml/kg)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 투여한 실험군과 ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 약물을 투여한 실험군에서도 대조군에 비하여 효소활성이 높게 나타났다.
- 4) PAS-조직화학적 관찰결과 대조군 생쥐의 간조직

에서는 중심정맥을 중심으로 PAS-양성 과립들이 미약하게 관찰되었으나, 갈근 추출물(1g/kg body weight)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol(40% V/V, 10g/kg body weight)을 투여한 실험군과 ethanol을 투여한 다음 30분 후에 동일한 양의 갈근 추출물을 투여한 실험군, 갈근 추출물(1g/kg body weight)+축력(3ml/kg)을 투여한 다음 30분 후에 ethanol을 투여한 실험군과 ethanol을 투여한 다음 동일한 양의 갈근과 축력을 투여한 실험군에서는 간조직은 중심정맥을 중심으로 PAS-양성 반응이 강하게 나타났다.

이와 같은 결과로 보아 급성으로 알코올을 투여한 생쥐에 대하여 갈근, 갈화 및 갈근과 축력 추출액은 알코올 독성으로부터 간을 보호하여 줄 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Forsander OA, Raiha Niels CR. Metabolites produced in the liver during alcohol oxidation. *J Biol Chem* 235: 34-36. 1960.
2. Larsen JA. Extrahepatic metabolism of ethanol in man, *Nature* 184: 1236, 1959.
3. Wheeler MD, Nakagami M, Bradford BU, Uesugi T, Mason RP, Connor HD, Dikalova A, Kadiiska M, and Thurman RG. Overexpression of Manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J Biol Chem.*, 28;276(39):36664-36672. 2001.
4. Abdellah M, Demelliers C, Amsellem S, Pessayre D and Fromenty B. Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, brain, heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. *J*

- Pharmacol. Exp. Ther.;298:737-743, 2001.
5. Keung WM, Vallee BL. Therapeutic lessons from traditional medicine to contemporary occidental pharmacology. *EXS* 71:371-381. 1994.
  6. Yoon JT, Kim, MJ, Kim SG. Effect of Long-term Administration of Radix Puerariae on Alcohol Craving in the Patients with Alcoholism. *Korean Neuropsychiatr Assoc.* 34(6): 1937-1948.
  7. Kim HS, Kim YG, Son HJ. Effect of Pueraria lobata Extract Water on the Ethanol Metabolism Enzyme Activities in Ethanol Administered in Rats. *J. Agri. Tech. & Dev. Inst.* 3:219-225, 1999.
  8. Woo HJ, Lee JH, and Kim YC. Studies of the effects of Puerariae Radix and Artemisiae Herba on experimental liver damages induced by alcohol, d-galactosamine and CCl<sub>4</sub>, 233-251.
  9. Lee MK, Cho SY, Jang JY, Cho MS, Jeon SM, Jang MK, Kim MJ, Park YB. Effects of Puerariae Flos and Puerariae Radix extracts on antioxidant enzymes in ethanol-treated rats. *Am J Chin Med*; 29(2):343-354, 2001.
  10. Aebi, H. Catalase in: *Methods of enzymetic analysis*(H.U. Vergmeyer, eds) Vol. 2:673, Academic press. New York, 1974.
  11. Lieber CS and DeCarli LM. Ethanol oxidation by hepatic microsomes adaptive increase after feeding. *Science*, 162:917, 1968.
  12. Ingelman-Sundberg M and Johansson I. Mechanism of hydroxyl radical formation and ethanol oxidation by ethanol-inducible and other forms of rabbit liver microsomal cytochrome P-450. *J. Biochem.*, 259:6447, 1984.
  13. Lin RC and Li TK. Effects of isoflavones on alcohol pharmacokinetics and alcohol-drinking behavior in rats. *Am J Clin Nutr*;68:1512s-5s, 1998.
  14. Kim MJ, Chung JI, Park JM, Kim SG, Choi YG. Effect of Radix puerariae on Blood Alcohol Concentration and Alcohol Effects in the Alcoholics. *Korean Neuropsychiatr Assoc.* 35(6): 1236-1246. 1996.
  15. Lee JS, Kim EU. Effects of Pueraria lobata extract on ADH and ALDH activities in ethanol administered rats. *The Kosin J. of Health Science.* 9:17-23. 1999
  16. Koch O, Farre S, De Leo ME, Palozza P, Palazzotti B, Borrelo S, Palombini G, Cravero A, Galeotti T. Regulation of manganese superoxide dismutase(MnSOD) in chronic experimental alcoholism: effects of vitamin of vitamin E-supplemented and-deficient diets. *Alcohol Alcohol*; 35(2):159-163, 2000.
  17. Burk RF, Hill KE, Awad JA, Morrow JD, Kato T, Cockell KA, and Lyons PR. Pathogenesis of diquat-induced liver necrosis in selenium-deficient rats. Assessment of the roles of lipid peroxidation by measurement of F2 isoprostanes. *Hepatology* 21:561-569, 1995.
  18. Rifkin RM, Todd WW, Toothaker DR, Sussman A, Trowbridge M, Draznin B. Effects of in vivo and in vitro alcohol administration on insulin binding and glycogenesis in isolated rat hepatocytes. *Ann Nutr Metab*.;27(4):313-319, 1983.
  19. Marco Domenicali, Paolo caraceni, Gianluigi Vendemiale, Ignazio Grattagliano, Bruno Nardo, Monia Dall Agata, Bruno Dantoni, franco Trevisani, Antonino Cavallari, Emanuele Altomare and Mauro Nernardi. Food deprivation exacerbates mitochondrail oxidative stress in rat liver exposed to ischemia-reperfusion injury. *J.Nutr.* 131:105-110, 2001.