J. Fd Hyg. Safety 11(2), 159 - 164(1996)

알로에의 과산화지질 억제효과에 관한 연구

하배진
부산여자대학교 자연과학대학 화학과

Studies on the Antilipidperoxidative Effect of Aloe

Bae-Jin Ha
Department of Chemistry, Pusan Women's University, Pusan, 617-736, Korea

ABSTRACT — The antilipidperoxidative and hepatopreventive effects of Aloe water extract (30 mg, 50 mg, 100 mg) were investigated at the levels of liver-total homogenates and the sera of SD-rats intoxicated with CCl_4 (0.5 cc/100 g) and 50% ethanol. We measured MDA (Malondialdehyde) in the liver homogenate, AST (L-Aspartate-2-oxoglutarate aminotransferase) and ALT(L-Alanine-2-oxo-glutarate aminotransferase) in the serum. The analysis of the measurement indicated that Aloe water extract reduced MDA, ALT and AST significantly and their reduction was in relation to dose dependence. In rat liver homogenate intoxicated with ethanol and CCl_4, Aloe treatment group markedly inhibited lipidperoxidation by 30%~70%. In rat serum intoxicated with ethanol and CCl_4, Aloe treatment group inhibited AST, ALT by 40%~90%. In these data Aloe may be used to inhibit or prevent the hepatic toxicity which results from the environmental and alcoholic factors through the further study of its exact antihepatotoxic mechanism.

Key words □ Aloe, Antilipidperoxidative effect, AST, ALT, CCl_4, Ethanol

과학의 발달과 더불어 화학물질에 대한 환경 오염이 심각하며, 복잡한 사회 생활에서의 stress 등 인체에 미치는 영향은 크다고 할 수 있겠다. 특히, 간장은 생체 지질 대사의 중심적인 역할을 하고 있는 중요 장기로써 지질은 합성 또는 분해하고 lipoprotein을 합성하여 혈액 중으로 방출함으로 혈중 lipoprotein의 대부분은 간장에서 유래한다. 이 장기에 이상이 생기면 지질 대사에 이상이 생기게 되어 과산화지질이 증가하게 된다. CCl_4에 의한 지방산, halogen화물에 의한 마취 후 간 장애 및 alcohol성 간 장애 등이 전형적인 예이다.

이 과산화지질은 생체 막의 radical attack로 발생하는 대표적인 세포 손상이며,생체 내에서 각종 효소나 lipoprotein을 변성시키고 세포막을 파괴하여 급성 조직 장애를 일으키거나 lipofuscin이 축적되어 세포 노화를 유도하며, 혈소판에서의 Thromboxane A_2 생성을 촉진하여 혈소판 응집과 혈관 폐쇄 등의 혈소판 기능 이상, 간 질환, 당뇨병, 고지혈증,뇌혈관 장애 등을 유발하는 등 각종 성인병의 원인이 될 뿐만 아니라 발암의 원인으로 주목되고 있다.[1-12]

이와 같이 과산화지질 및 2차 산화생성물은 체내에 있는 효소의 불화성화를 초래하여 독성발현기구의 하나로 관심사가 아닐 수 없다. 이에 의한 장애들을 예방 치료할 수 있는 물질을 탐색하던 중 만능 민간신비의 약초로 알려진 알로에를 사용하였다. 예로부터 민간 약으로 사용되어 온 알로에는 백합과(Liliaceae)의 알로에 속(Aloineae)에 속하는 다년초로서 다육질의 잎을 갖고 있는 식물이다. 원산지는 주로 아프리카로서 사막에서도 자랄 정도로 생육에 필요한 수분 량의 거의 60~70%를 공기 중에서 흡수하여 생명을 유지할 정도로 끈질 긴 생명력은 오히려 신비로움을 더해주고 있고 수많은 알로에(Aloe)중에서도 약효가 뛰어난 알로에 베라(*Aloe Vera*)는 미국 약전에(USP)에 *Aloe bar badensis* Miller라는 학명을 사용하고 있다. 최근에 알로에의 약리 효능과 임상 치료 효과가 입증되면서 난치성 피부병, 항염증 작용, 소화기 궤양, 호흡기질환, 항암작용, 항히스타민작용, 면역기능조절작용, 방사선 조사에 의한 백혈구 감소증에 대한 효과 및 암등 난치성 성인병의 예방 및 개선 치료가 탁월한 것으로 알려지고 있다.[13-22]

따라서 본 연구에서는 약효가 뛰어난 것으로 분류되고 있는 약용 알로에 베라(Aloe Vera)를 용량별로 사용하여 지질과산화의 억제활성을 검토하였고, CCl_4와 ethanol을 지질과산화 유도제로 선택하여 Table 1과 같이 시행하였다.

Table 1. Schedule for treatment of rat with CCl_4, ethanol and tested chemicals and assay

Group	Dose	Day			
		1st day	2nd day		3rd day
			pm 6 : 00	pm 9 : 00	am 9 : 00
Normal control	0.9% saline	saline	saline	saline	
Ethanol control	Ethanol:1.5 m*l*/100 g/day	saline	saline	saline	
CCl_4 control	CCl_4:0.5 m*l*/100 g/day	saline	saline	CCl_4	
ET1A	Aloe:30 mg/Kg/day Ethanol:1.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	Ethanol	
ET2A	Aloe:50 mg/Kg/day Ethanol:1.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	Ethanol	Assay
ET3A	Aloe:100 mg/Kg/day Ethanol:1.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	Ethanol	
CT1A	Aloe:30 mg/Kg/day CCl_4:0.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	CCl_4	
CT2A	Aloe:50 mg/Kg/day CCl_4:0.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	CCl_4	
CT3A	Aloe:100 mg/Kg/day CCl_4:0.5 m*l*/100 g/day	Aloe	Aloe	CCl_4	

Each group consists of 6 SD rat (female, 150~180 gm).
CCl_4 dissolved in olive oil was given orally.
Each chemicals suspended in 0.9% saline was administrated intraperitoneally

재료 및 방법

실험 동물 및 시료

웅성 SD(Sprague Dawly)-rat를 Life Science에서 구입하여 실험에 사용할 때까지 동물 고형사료를 사용하였고 물은 자유롭게 섭취하도록 하였다. 조명은 명암을 각각 12시간으로 하여 조절하였고, 온도는 22±2°C, 습도는 55±5%로 조절하면서 1주일간 적응시켰다. Aloe는 시중에서 구입하여 수층을 -70°C의 defreezer에 냉동하여 freezing dryer에서 분말로한 다음 시료로 사용하였다.

지질과산화의 유도와 Aloe의 투여

SD-rat(180~200 g) 6마리씩을 1군으로 하여 대조군과 CCl_4군, Aloe A1+CCl_4군, Aloe A2+CCl_4군, Aloe A3+CCl_4군, Ethanol군, Aloe A1+Ethanol군, Aloe A2+Ethanol군, Aloe A3+Ethanol군, 그리고 각 군마다 Aloe 단독처리군 등의 시험군으로 구분하고 시험군에 1일 1회씩 2일간 A1, A2, A3에 각각 Aloe 수층 시료(30 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg)를 각각 복강내에 주사하였고, 대조군, CCl_4군과 Ethanol군에는 시료량과 동량의 생리식염수를 같은 방법으로 투여하였다. 이틀째 시료 투여 후 3시간 동안 사료 공급을 중단하고 Olive oil에 동량으로 혼합한 CCl_4(0.5 cc/100 g)와 50% Ethanol(1.5 cc/100 g)을 각각 stomach tube를 사용하여 경구 투여하였다.

과산화지질의 측정

CCl_4와 Ethanol을 SD-rat에 투여한 뒤 12시간 절식시킨 후 ether로 약간 마취시켜 cardiac puncture로 혈액을 채취하여 3000 rpm에서 원심 분리시키고 혈청을 얻었다. 간은 적출하여 미리 평량해 놓은 vial에 넣어 간의 무게를 재었다. 간 무게의 5배 용량의 1/20 M phosphate buffer(pH 7.4)에 teflon glass homogeniser로 homogenation시켜 마개 있는 시험관에 0.5 m*l*씩 triplet로 취하였다. TBA (Thiobarbituric acid)변법으로 7% sodium dodecyl sulfate (SDS)의 가용화법에 기초하여 535nm에서 과산화지질을 분석하였다.

혈청 중 AST와 ALT 활성 측정

혈청 중 AST 및 ALT 활성은 Reitman-Frankel method로 다음과 같이 측정하였다.

AST측정—AST substrate 1.0 m*l*을 시험관에 넣어서 37°C water bath에 5분간 두었다. 여기에 0.2 m*l*의 혈청을 가하여 섞고 정확하게 60분간 반응시켰다. 시간이 되면 1 m*l*의 color reagent를 가하여 섞어서 20분간 실온에 두었다. 0.4 N NaOH 10 m*l*를 가하여 섞고 5-10분간 방치한 후 파장 505 nm에서 증류수를 blank로 하여 흡광도를 구한 후 표준곡선을 이용하여 측정하였다.

ALT측정—ALT측정은 AST substrate 대신 ALT substrate를 사용하여 30분간 반응시키고 이후는 AST측정법과 같다.

자료의 통계분석

각 군의 상호관의 상관성은 Duncan's test에 의하여 통계

적으로 분석하였다.

결과 및 고찰

CCl_4에 의한 간 homogenate의 과산화지질 생성에 미치는 Aloe의 영향

CCl_4에 의한 간 homogenate의 과산화지질 생성에 미치는 Aloe의 영향은 Fig. 1과 같다. CCl_4처리군의 경우 35.85±2.05 nmole로 정상군의 12.19±1.91 nmole에 비하여 3배정도 상당히 높은 과산화지질 생성을 나타내었고 Aloe를 100 mg/kg 투여한 군에서는 19.29±0.99 nmole로서 정상군에 비교하여 과산화지질 생성을 70%정도 억제하였으며, 그리고 Aloe 50 mg/kg 투여한 군과 30 mg/kg 투여한 군은 각각 23.50±0.63 nmole과 24.67±0.54 nmole로서 정상군과 비교하여 각각 53%, 47%의 억제율을 보였고, 용량의존적으로 감소시켰다. 본 실험의 결과에도 과산화치가 Control군에서 보다 CCl_4투여군에서 3배정도 높은 수치를 보이고 있어 기성 문헌의 결과와 그 경향이 일치하고 있다.[23,24]

CCl_4에 의한 간독성(hepatotoxicity)은 CCl_4가 간내 mixed function oxidase에 의해 산화될 때 발생되는 자유기(free radical)에 의한 세포손상때문으로 사료된다.[25] Free radical에 의한 세포독성은 chemical이 직접 radical로 변화되거나 대사 부산물로서 superoxide가 형성되어 일어나며 독성학적 측면에서 볼때 free radical은 세포내 recycling반응에 관여하며 radical을 계속적으로 생산시키고 또는 reduced cofactor의 고갈 등 부수적인 역효과를 초래한다.[26] 그러나 생물체는 지질의 산화와 자유기를 억제시킬 수 있는 자체 방어 물질들 즉, vitamin A, E, C를 갖고 있다. CCl_4투여군에 비하여 과산화지질 감소효과를 보이는 알로에도 과산화지질 방어물질로 간세포 보호에 큰 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

Ethanol에 의한 간 homogenate의 과산화지질 생성에 미치는 Aloe의 영향

Ethanol에 의한 간 homogenate의 과산화지질 생성에 미치는 Aloe의 영향은 Fig. 2와 같다.

Ethanol을 지질과산화 유도제로 사용할 경우에도 CCl_4를 사용하였을 경우와 유사한 경향으로 지질과산화 현상이 관찰되었다. SD-rat에 ethanol (1.5 ml/100 g)만을 급성적으로 경구 투여한 군에서는 27.59±2.59 nmole로서 정상군에 비해 약 2배의 과산화지질이 검출되었으나 알로에 100 mg/kg 투여한 군에서는 16.89±1.40 nmole 로서 정상군과 비교시 과산화지질 생성을 69.5% 억제하였고 역시 알로에 50 mg/kg 투여군과 30 mg/kg 투여군에서는 각각 21.36±0.83 nmole, 22.36±1.76 nmole 로서 정상군과 비교하여 각각 40%, 30%의 감소율을 보였다.

Ethanol 투여에 의한 과산화지질 생성 기전은 명확하지 않으나 ethanol이 acetaldehyde로의 산화과정에 생기는 극히 불안정한 ethoxy radical이 관여할 가능성이 있고, 또한 ethanol을 급성적으로 투여하면 특히 hepatocyte 중의 항산화제 함량이 현저히 저하된다고[27] 보고 된점 등을 감안할 때 ethanol 투여에 의한 지질 과산화 현상은 생체에 항산화 활성 물질의 감소와 일부 불안정한 ethoxy radical에 의한 복합적인 작용에 의한 유도될 것으로 추정해 볼 수 있다.

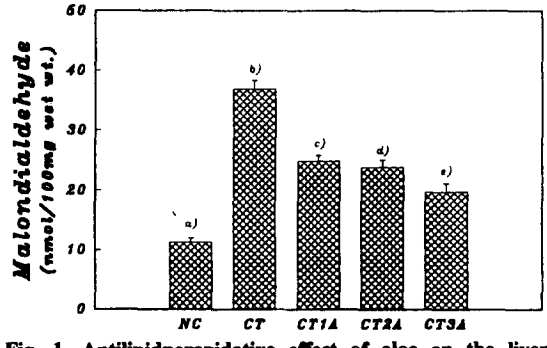

Fig. 1. Antilipidperoxidative effect of aloe on the liver homogenate of CCl_4-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, CT; CCl_4-treated group, CT1A; aloe-treated group (30 mg). CT2A; aloe-treated group (50 mg). CT3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), b) vs c), d), e); P<0.05 (Duncan's test)

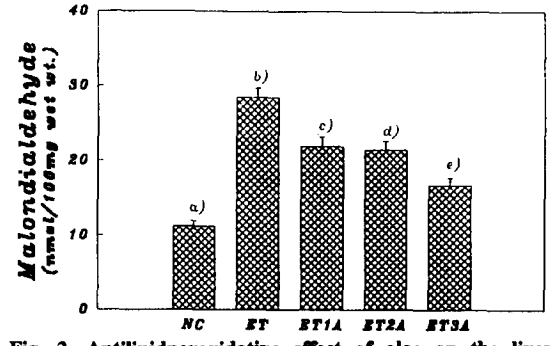

Fig. 2. Antilipidperoxidative effect of aloe on the liver homogenate of ethanol-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, ET; ethanol-treated group, ET1A; aloe-treated group (30 mg). ET2A; aloe-terated group (50 mg). ET3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), v) vs c), d), e): P<0.05 (Duncan's test)

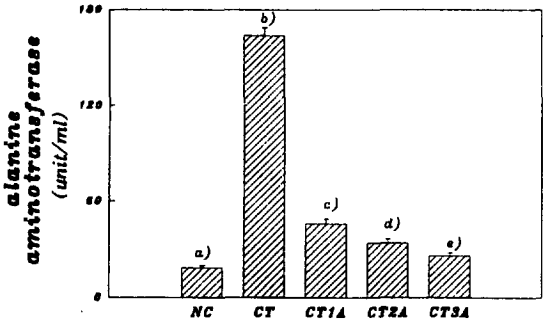

Fig. 3. Hepatopreventive effect of aloe on the serum of CCl_4-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, CT; CCl_4-treated group, CT1A; aloe-treated group (30 mg). CT2A; aloe-treated group (50 mg). CT3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), b) vs c), d), e): P<0.05 (Duncan's test)

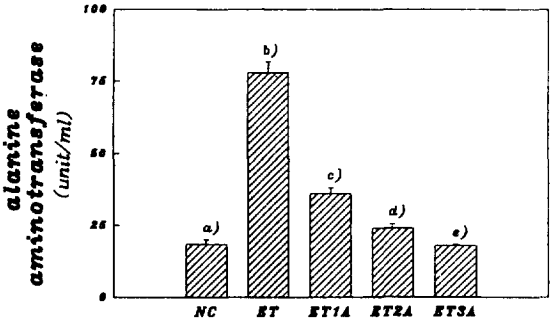

Fig. 4. Hepatopreventive effect of aloe on the serum of Ethanol-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, ET; ethanol-treated group, ET1A; aloe-treated group (30 mg). ET2A; aloe-treated group (50 mg). ET3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), b) vs c), d), e), c) vs e): P<0.05 (Duncan's test)

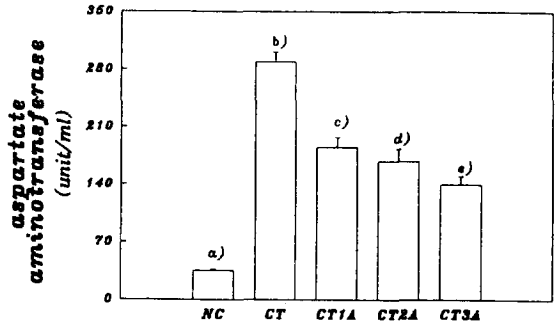

Fig. 5. Hepatopreventive effect of aloe on the serum of CCl_4-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, CT; CCl_4-treated group, CT1A; aloe-treated group (30 mg). CT2A; aloe-treated group (50 mg). CT3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), b) vs c), d), e): P<0.05 (Duncan's test)

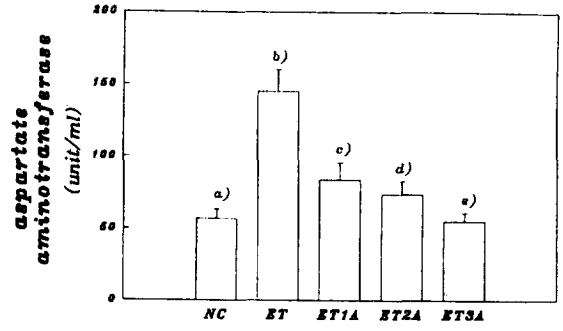

Fig. 6. Hepatopreventive effect of aloe on the serum of Ethanol-treated rat.

Values are mean±SE. NC; normal control group, ET; ethanol-treated group, ET1A; aloe-treated group (30 mg). ET2A; aloe-treated group (50 mg). ET3A; aloe-treated group (100 mg). a) vs b), b) vs c), d), e), c) vs e): P<0.05 (Duncan's test)

CCl_4에 의해 유도된 백서에서 간독성 보호작용과 더불어 ethanol에 의해 유도된 백서에서의 Aloe 투여시 지질과산화치의 감소 경향은 자체 항산화력에 의하며 radical scavenger로써의 역할과 지질의 다중불포화 지방산 보호작용을 겸하고 있을 것으로 추정된다.

혈청 중 ALT, AST의 변화

혈청중 ALT, AST의 변화는 Fig. 3, 4, 5, 6에 나타난 바와 같이 정상군은 각각 ALT 20.18±1.70 u/m*l*, AST 57.0±5.59 u/m*l* 인데 비하여 CCl_4 단독 투여군에서는 5~8배정도 급격히 상승하여 ALT 163.35±6.99 u/m*l*, AST 288.0±12.49 u/m*l*로 나타났으나 알로에 투여군 100 mg/kg, 50 mg/kg과 30 mg/kg에서는 ALT가 26.31±7.71 u/m*l*, 34.50±2.38 u/m*l*, 46.50±1.91 u/m*l*로 거의 90~80% 정도까지 정상치로 알로에용량별 저하되었으며 AST는 각각 139.75±6.95 u/m*l*, 168.75±6.24 u/m*l*, 184±7.83 u/m*l*로 거의 64~51%의 용량별 감소 효과를 보였다. 반면에 Ethanol 단독 투여군에서는 ALT가 79.501±2.89 u/m*l*로 정상군에 비하여 4배정도 상승하였고 AST는 146.25±11.50 u/m*l*로 정상군에 비

하여 수치가 높게 나타났으며 알로에 투여군 100 mg/kg, 50 mg/kg과 30 mg/kg은 ALT가 각각 20.36±2.63 u/ml, 23.30±2.50 u/ml, 35.3±2.63 u/ml로 감소 현상을 보였고 역시 AST도 55.0±4.76 u/ml, 72.5±3.42 u/ml, 85.25±4.03 u/ml로 용량별로 감소함을 보였다. 특히 Aloe 100 mg/kg의 투여군에서는 거의 정상범위로 회복됨을 관찰할 수 있었다.

Rat의 간독성 시험에서 CCl_4, thioacetamide, dimethyl-nitrosamin 및 Allyl alcohol 등 간 독성 물질의 급성 투여 후에 GPT및 GOT가 상승하였다고 보고한 바 있는데[28] 본 조사에서 CCl_4나 Ethanol 투여로 AST와 ALT의 급격한 상승은 급성 간장 장애와 밀접한 관계가 있는 것으로 보이고 특히 CCl_4와 Ethanol을 투여한 군에서의 ALT와 AST 활성을 정상군과 비교하여 볼때 ALT가 AST 활성치보다 급상승율이 커다는 사실을 관찰할 수 있었다. 이는 임상학적으로 간질환 중 급성 간염이나 중독성 간염으로 인한 결과라는 사실을 알 수 있었다. 이상의 결과를 종합하여 보면 알로에 투여군에서 MDA치의 현저한 감소와 ALT, AST 활성의 정상상태로 회복되는 결과를 관찰함으로써 알로에는 간세포의 보호기능으로서 지질과산화의 억제효과가 있는 물질임을 확인할 수 있었다.

감사의 말씀

본 연구는 1995년도 부산여자대학교 연구비로 수행되었기에 이에 감사드리는 바입니다.

국문요약

CCl_4와 ethanol로 유도된 SD-rat의 간과 혈청에서 항과산화지질 및 간기능활성에 미치는 알로에의 용량별 효과를 조사하였다. 간 homogenate에서의 과산화지질치와 혈청에서의 AST와 ALT을 측정한 결과 알로에 수층을 투여한 군에서 MDA량, ALT, AST의 활성이 현저하게 저하되었고 용량 의존적으로 감소함을 알 수 있었다. Ethanol과 CCl_4단독 투여군에 비하여 알로에 용량별 투여군에서 30~70%까지 과산화지질을 억제하였고, AST, ALT의 경우는 알로에 용량별 투여군에서 40~90%까지 억제함을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과들은 간독성 물질에 노출되는 경우와 음주시에 간독성을 예방 및 저감 시킬 수 있는 제제로서의 개발 가능성을 시사하고 있다.

참고문헌

1. Desai, I.D., *et al*: Polymerization of proteins by peroxidized lipids. *J. Lipid. Res.*, **4**, 204 (1963).
2. Tappel, A.L.: Lipidperoxidation damages to cell components. *Fed. Proc.*, **32**, 1070 (1973).
3. Rouba, W.T., *et al*: Polymerization of proteins induced by free radical lipidperoxidation. *Arch. Biophys.*, **113**, 150 (1966).
4. Tappel, A.L.: Lipidperoxidation and fluorescent molecular damage to membrane. In Pathological aspect of cell membrane. Vol 1, *Academic Press, N.Y.*, (1973).
5. Marcus, A.J., *et al*: Lipid composition of subcellular particles of human blood platelets. *J. Lipid. Res.*, **10**, 108 (1969).
6. Cohen, P., *et al*: Comparison of phospholipid and fatty acid composition of human erythrocytes and platelets. *J. Hematol.*, **17**, 359 (1969).
7. Okuma, M., *et al*: Incorporation of acetate and fatty acids into lipids of rat platelets. *J. Lab. Clin. Med.*, **75**, 283 (1970).
8. Okuma, M., *et al*: Lipid peroxides in platelet. *Blood*, **34**, 523 (1969).
9. Tappel, A.L., *et al*: Effect of antioxidants and nutrients on lipidperoxidation fluorescent products and aging parameters in mouse. *J. Gerontol.*, **28**, 415 (1973).
10. Tappel, A.L.: Lipidperoxidation and fluorescent molecular damage to membranes. In "pathological aspect of cell membrane" Vol. 1, Academic Press, N.Y. (1973).
11. Mead, J., *et al*: The unsaturated and polyunsaturated fatty acids in health and disease. *Thomas.*, 154-174 (1976).
12. Okuma, M., *et al*: Studies on lipidperoxides in platelet antibody. *J. Lab. Clin. Med.*, **77**, 728 (1971).
13. Saito, H., *et al*: Pharmacological studies on a plant lectin aloctin A II. Inhibitory effect of aloctin A on experimental models of inflammation in rats. *Japan. J. Pharmacol.*, **32**, 139-142 (1982).
14. Davis, R. H. and Maro, M. P.: Aloe vera and gibberellin. *J. Am. Podi. Med. Assoc.*, **79**, 24-26 (1989).
15. Hart, L.A." An anti-complementary polysaccharide with

immunological adjuvant acivity from leaf Parenchyma gel of Aloe Vera. *Planta Medica,* **55**, 509-512 (1989).

16. Yagi, A., Makino, K., Nishioka, I. and Kuchino Y.: Aloe Mannan, Polysaccharide from Aloe arborescens var. natalensis. *Planta Medica,* **31**, 17-20 (1977).
17. Shida, T., Yagi, A., Nishimura, H. and Nishioka, I.: Effect of Aloe extract on peripheral phagocytosis in adult bronchial asthma. *Planta Medica,* **51**, 273-275 (1985).
18. Fujita K., Teradaira R. and Nagatsu T.: Bradykinase activity of aloe extract. *Biochem Pharmacol* **25**, 205-209 (1976).
19. Fujita K., *et al*: Preparation of a carboxypeptidase from aloe. *Biochem Pharmacol* **28**, 1261-1262 (1979).
20. Fulton JR.: Dermabrasion-Loo-Punch-Excision Technique for the treatment of Acne-induced osteoma cutis. *J. Dermatol Surg Oncol* **13**, 655-659 (1987).
21. Hegazy MA., *et al*: The use of aloe vera extract in the treatment of experimental corneal ulcers in rabbit. *J. Drug Res Egypt* **10**, 198-210 (1978).
22. Nakagoni K., Oka S., *et al*: A novel biological activity in aloe components: Effect on mast cell degranulation and platelet aggregation. *Rep Ferment Res Inst* **63**, 23-30 (1985).
23. Comporti, M.: Effect of carbon tetrachloride in microsome and mitochondria on lipidperoxidation of rat liver homogenates and subcellular fractions. *Enzymologia.* **29**, 185-189 (1965).
24. Gallagher, C.H.: The effect of antioxidants on poisoning by carbon tetra- chloride. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* **40**, 241-250 (1962).
25. Schwarz K.: Vitamin E trace elements and sulfhydryl groups in respiratory decline. *Vit. Horm.* **20**, 463-472 (1962).
26. Bridges, J.W.: The effects of nutritional fectors on renal response to toxins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.,* **42**, 230-239 (1983).
27. Spencer, S., Elizabath, j., and Lieber, C.S.: The effect of chronic alcohol feeding on lipidperoxidation in microsomes. Lack of relationship to hydroxyl radical generation. *Biochem. Biophysic. Res. Commun.* **118**, 133 (1984).
28. Balazs, T., *et al*: Hepatic tests in toxicity studies on rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **3**, 71-78 (1961).