

## CCl<sub>4</sub> 독성에 미치는 오미자 열매의 물추출물의 효과

이정숙 · 이성우\*

한국인삼연초연구소

\*한양대학교 식품영양학과

(1989. 11. 27 접수)

### Effect of Water Extract in Fruits of Omija (*Schizandra chinensis Baillon*) on CCl<sub>4</sub> Toxicity

Joung Sook Lee and Sung Woo Lee\*

Korea Ginseng & Tobacco Research Institute

\*Department of Food and Nutrition, Hanyang University

(Received November 27, 1989)

#### Abstract

The effect of water extract in fruits of Omija (*Schizandra chinensis Baillon*) on liver function in experimental liver injuries induced by CCl<sub>4</sub>.

The levels of GPT, GOT activities in serum were decreased apparently on the dosage of water extract in fruits of Omija correspond to raw Omija 1g compared to control group.

The levels of Microsomal protein, glycogen, and pyruvate in liver and of Urea nitrogen, GPT, GOT, LDH in serum showed a trend toward restoration of normalization.

No effective of levels of hepatic G6P DH activity and serum free fatty acid by water extract in fruits of Omija.

#### I. 서 론

근래에는 간 보호에 대한 관심이 높아져 생약류들이 각종 약물대사에 미치는 효능들이 중요시되고 있는데, 실험적으로 간 손상을 유발시킬 수 있는 물질은 대단히 많으나 그 중 CCl<sub>4</sub>가 전형적인 물질로 알려져 있다.<sup>1-4)</sup>

다량의 CCl<sub>4</sub>를 투여하면 대사 중에 Trichloromethyl radical( $\cdot\text{CCl}_3$ )을 생성하여<sup>5,6)</sup> 세포내에서 mitochondria, lysosomes의 미세구조적 변화, microsomes 효소활성 감소를 초래하고, 특히 serum transaminase 활성치가 높아지고 궁극적으로 organelle의 분열이 일어난다<sup>7,8)</sup>고 한다.

CCl<sub>4</sub>로 유발된 간기능 장애에 미치는 오미자의 효능에 대한 연구로서는 Bao<sup>9)</sup> 등이 오미자 성분 중의 lignans가 상승된 GPT 수준을 저하시키는 효과를, Maeda 등<sup>10)</sup>은 lignans 중의 Gomisins A가 indocyanin green(ICG) clearance, bile 분비 촉진 효과를, Hikino 등<sup>11)</sup>은 Hepatocyte 수준에서 오미자의 추출분획물의 투여 1시간 후에

GPT 수준을 감소시키고, lignans의 antihepatotoxic effects에 대한 실험 보고들이 있다.

본 연구에서는 오미자 열매의 물추출물이 CCl<sub>4</sub> 투여로 인한 간기능 장애에 대한 대사개선효과가 있음을 규명하기 위하여 간과 혈청에서의 대사산물과 효소활성을 관찰하였기에 보고한다.

#### II. 재료 및 실험방법

##### 1. 실험재료

오미자 열매의 물추출물은 전보<sup>12)</sup>에서와 동일한 시료로 하였으며, 실험에 사용된 시약은 Glutamate pyruvate transaminase(GPT), Glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), Urea nitrogen(UN), Free fatty acid, Lactate dehydrogenase(LDH)는 日本製藥(일본) 제품의 Kit 시약, Pyruvate는 Sigma(미국) 제품의 Kit 시약을 사용하였다.

NADP, MgCl<sub>2</sub>, Glucose 6-phosphate는 Sigman 제품

을, CCl<sub>4</sub>는 Fulka(스위스) 제품을, 그외의 시약은 Merck 제품으로 특급시약을 사용하였다.

Homogenizer는 B. Braun Melsungen AG를, Centrifuge는 Sorvall OTD 75B를 이용하였고, Spectrophotometer는 Beckman DU-6를 이용하였다.

실험동물은 Sprague Dawley rats(웅성, 체중 약 200 g)를 한 실험군에 8마리씩 배정하였다.

사육실의 온도는 22±2°C, 습도는 60% 전후로 조절하였고, 사육식은 고형사료(삼양유지 사료(주): 조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 배합사료)를 물과 함께 자유로이 섭취케 하고, 빛은 오전 6시부터 오후 6시까지 조절되는 방에서 사육시킨 것을 실험에 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 1) 실험동물 처리

실험동물을 2군으로 나누어 CCl<sub>4</sub>(100μl/200g B.W., Olive oil로 1 : 1 희석<sup>13,14</sup>)를 복강주사 후 30분에 물을 1ml 경구투여하여 대조군으로 하고, 오미자 열매의 물추출물을 경구투여하여 실험군으로 하였다.

CCl<sub>4</sub>로 유발된 간기능의 장애가 투여 24시간 후에 가장 심하다는 Abe 등<sup>8</sup>의 연구보고에 근거하여 대조군과 실험군을 Ethyl ether로 마취시켜 심장으로부터 혈액을 채취한 후 간을 적출하였다.

### 2) Liver homogenate의 분획 조작

대조군과 실험군으로부터 얻은 whole liver를 0.25 M sucrose(ice cold)로 씻어 혈액을 완전히 제거한 후, 0.25 M sucrose를 첨가하여 homogenizer를 이용하여 teflon pestle로 1,000 rpm에서 5분간 균질화시켜 25% homogenate를 만들었다.

Liver homogenate를 10,000×g에서 20분간 2회 원심분리하여 얻은 상등액을 효소원으로 사용하였다. 이때 모든 조작은 0~4°C에서 진행되었다.

### 3) Microsomal protein 정량

2)의 방법으로 얻은 10,000×g supernatant를 Lowry 방법<sup>15</sup>에 의해 정량하였다.

### 4) Glycogen 정량

2)의 방법에서 얻은 25% homogenate를 Clark 방법<sup>16</sup>에 의하여 5% Trichloroacetic acid를 첨가하여 제단백한 후 95% ethanol로 glycogen를 침전시키고 무수알콜로 씻은 후 무게를 측정하였다.

### 5) Pyruvate 정량

2)에서 얻은 25% homogenate를 Marbach, Huckabee<sup>17,18</sup> 방법에 준하여 Kit 시약을 이용하여 정량하였다.

6) Glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성도 측정<sup>19</sup>

효소에 의해 환원되는 NADPH를 0.1 M Triethanolamine buffer(pH 7.6), 0.1 M MgCl<sub>2</sub>, 35 mM Glucose-6-phosphate, 11 mM NADP, cytosolic protein(10,000×g supernatant 이용)을 포함하는 1.5 ml의 반응액에서 340 nm에서의 흡광도 변화로 측정하였다.

### 7) 혈청분리

혈액을 채혈한 즉시 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액(serum)을 분석용 시료로 하였다.

### 8) 혈청분석

Urea nitrogen은 Searcy 방법,<sup>20</sup> Free fatty acid는 Hosaka 방법,<sup>21</sup> GPT, GOT는 Reitman-FranKel 방법,<sup>22</sup> LDH는 젓산기질법<sup>23</sup>에 준하여 Kit 시약을 이용하였다.

### 9) 통계처리 방법

모든 실험결과는 통계처리하여 실험군당 평균치와 표준편차를 계산하였고, student's t-test<sup>24</sup>로 통계적 유의성을 검정하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. CCl<sub>4</sub> 투여에 따른 GPT, GOT 수준에 미치는 오미자 물추출물의 투여량 변화에 따른 효과

Abe 등<sup>8</sup>과 윤 등<sup>25</sup>의 연구에서 CCl<sub>4</sub> 투여 24시간 후에 GPT, GOT의 활성도가 최고점에 이른다는 보고를 토대로 하여 CCl<sub>4</sub> 투여 후 24시간에서의 오미자 물추출물 투여량은 원료 오미자에 해당되는 양으로 환산한 것으로 이에 따른 GPT, GOT의 수준 변화는 Table 1과 같다.

오미자 0.5g까지의 투여량에서 GPT, GOT의 수준이 대조군(100% 수준)에 비해 97%까지 감소하기 시작하여 1.0g에서 GPT까지 감소하기 시작하여, 1.0g에서 GPT

Table 1. Effect of water extract in fruits of Omija on GPT, GOT levels by CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Dose of Omija (g/200g b.W.)	GPT (IU/ml, %)	GOT (IU/ml, %)
0	53.02 ± 3.08 (100)	106.57 ± 1.07 (100)
0.25	51.18 ± 2.40* (97)	104.43 ± 2.30 (98)
0.50	51.25 ± 0.90* (97)	103.22 ± 2.96 (97)
0.75	48.70 ± 1.89 (92)	102.23 ± 2.30 (96)
1.00	45.84 ± 3.11 (87)	98.43 ± 3.52 (92)
1.25	44.76 ± 1.56 (84)	97.45 ± 3.35 (91)
1.50	45.85 ± 2.75 (87)	96.00 ± 4.52 (90)

Water extract in fruits of Omija (raw Omija 1 g/rat, 200g B.W.) were administered orally to rat 30 min. after CCl<sub>4</sub> (100μl/rat, 200g B.W., i.p.) administration.

Control group was treated with an equal volume of water and CCl<sub>4</sub>.

All values are mean ± SD; student's t-test: p < 0.05. asterisk indicated none significant.

**Table 2.** Effect of water extract in fruits of Omija on hepatic microsomal metabolism by CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Treatment	Protein (mg/g liver)	Glycogen (mg/g liver)
CCl <sub>4</sub>	17.10 ± 1.39	10.28 ± 3.61
CCl <sub>4</sub> + fruits	22.33 ± 3.94	14.75 ± 3.52
% of CCl <sub>4</sub>	130.6	143.5

Water extract in fruits of Omija (raw Omija 1 g/rat, 200 g B.W.) were administered orally to rat 30 min. after CCl<sub>4</sub> (100 μl/rat, 200 g B.W., i.p.) administration.

Control group was treated with an equal volume of water and CCl<sub>4</sub>.

All values are mean ± SD: student's t-test: p < 0.05

**Table 3.** Effect of water extract in fruits of Omija on hepatic microsomal metabolism by CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Treatment	Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (μmole/min./mg protein)	Pyruvate (μg/g liver)
CCl <sub>4</sub>	0.039 ± 0.005	81.78 ± 3.25
CCl <sub>4</sub> + fruits	0.036 ± 0.008*	48.87 ± 4.76
% of CCl <sub>4</sub>	92.3	59.8

Water extract in fruits of Omija (raw Omija 1g/rat, 200 g B.W.) were administered orally to rat 30 min. after CCl<sub>4</sub> (100 μl/rat 200 g B.W., i.p.) administration.

Control group was treated with an equal volume of water and CCl<sub>4</sub>.

All values are mean ± SD: student's t-test: p < 0.005 asterisk indicated none significant.

87%, GOT 92% 수준에서 감소경향이 둔화되어 1.5g 투여량에서 GPT 87%, GOT 90%로 정상상태에 도달한 것으로 생각된다. 이와 같은 성적을 근거로 CCl<sub>4</sub> 투여에 따른 간과 혈청에서의 대사산물과 효소활성에 미치는 효과를 오미자 원료 1g 해당량의 물추출물을 투여하여 관찰하였다.

### 2. CCl<sub>4</sub> 투여에 따른 간에서의 대사산물과 효소활성에 미치는 오미자 열매의 물추출물의 효과

Table 2와 3에서 보는 바와 같이 microsomal protein 함량은 CCl<sub>4</sub> 투여시 17.10 mg 수준이었는데, 오미자 열매의 물추출물 투여로써 130.6% 수준으로 Glycogen 함량은 대조군 10.28 mg 수준이 143.5% 수준으로 증가시키는 경향이였다.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성도는 CCl<sub>4</sub>

**Table 4.** Effect of water extract in fruits of Omija on the serum constituents by CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Treatment	Urea nitrogen (mg/dl)	Free fatty acid (μEq/l)
CCl <sub>4</sub>	21.28 ± 3.45	523.42 ± 57.64
CCl <sub>4</sub> + fruits	18.77 ± 1.93	586.17 ± 134.35
% of CCl <sub>4</sub>	88.2	112.0

Water extract in fruits of Omija (raw Omija 1 g/rat, 200 g B.W.) were administered orally to rat 30 min. after CCl<sub>4</sub> (100 μl/rat, 200 g B.W., i.p.) administration.

Control group was treated with an equal volume of water and CCl<sub>4</sub>.

All values are mean ± SD: student's t-test: p < 0.05

투여로 0.039 μmole 수준의 활성도를 오미자 열매의 물추출물에 의한 효소활성도 촉진효과가 나타나지 않았다.

Pyruvate 수준은 CCl<sub>4</sub> 투여로 증가경향인 것을 오미자 열매의 물추출물 투여로 59.8% 수준으로 저하시키는 것으로 나타났다.

### 3. CCl<sub>4</sub> 투여에 따른 혈청에서의 대사산물과 효소활성에 미치는 오미자의 부위별 물추출물의 효과

혈청에서의 대사산물과 효소활성의 변화는 Table 4와 5에서 보는 바와 같다.

Urea nitrogen 수준이 CCl<sub>4</sub> 투여로 증가된 것을 오미자 열매의 물추출물이 대조군의 88.2% 수준으로 저하시켜 주는 효과가 있는 것으로 나타났고, Free fatty acid는 CCl<sub>4</sub> 투여에 대한 방어효과가 없는 것으로 나타났다.

GPT, GOT, LDH 활성도의 수준이 CCl<sub>4</sub> 투여로 상승된 수준을 오미자 열매의 물추출물 투여로써 92.5%, 90.1%, 70.9%로 감소시키는 경향이였다.

위의 실험결과를 고찰해 볼 때 Smuckler 등<sup>26)</sup>과 Recknagel 등,<sup>7)</sup> David 등<sup>27)</sup>이 CCl<sub>4</sub> 투여로 인하여 Protein Synthesis가 감소된다고 하였고 相賀徹夫<sup>28)</sup>와 竹田茂文 등<sup>29)</sup>은 CCl<sub>4</sub>로 인해 손상된 간기능에, 오미자의 성분 중의 간에서 단백질합성 촉진효과와 glycogen 합성 능력을 강하게 하는 효능이 있다고 하였다. 또한 CCl<sub>4</sub>로 인해 상승된 Transaminase 활성 등 약물대사 유도작용으로 GPT, GOT, LDH 활성도를 저하시키는 효과가 있다고 하였다.

오미자의 효능을 생약 중의 인삼과 비교해 볼 때 인삼보다 작용은 약하지만 비특이성 자극에 대해서 생체 저항력이 강하다<sup>30)</sup>고 하였다.

본 연구결과와 비교해 볼 때 protein, glycogen 함량이

**Table 5.** Effect of water extract in fruits of Omija on the serum constituents by CCl<sub>4</sub>-treated rats.

Treatment	GPT (IU/ml)	GOT (IU/ml)	LDH (Wroblewski unit)
CCl <sub>4</sub>	51.59 ± 2.33	110.08 ± 6.42	2037.00 ± 246
CCl <sub>4</sub> + fruits	47.73 ± 4.28	99.22 ± 10.65	1444.50 ± 352
% of CCl <sub>4</sub>	92.5	90.1	70.9

Water extract in fruits of Omija (raw Omija 1 g/rat, 200 g B.W.) were administered orally to rat 30 min. after CCl<sub>4</sub> (100 μl/rat, 200 g B.W., i.p.) administration.

Control group was treated with an equal volume of water and CCl<sub>4</sub>.

All values are mean ± SD; student's t-test: p < 0.01

CCl<sub>4</sub> 투여군보다 증가하는 경향으로 GTP, GOT, LDH 수치가 감소하는 경향으로 나타나 위의 연구보고와 일치하는 것으로 보아 오미자 열매의 물추출물은 간세포의 보호작용과 막 안정화작용이 있는 것으로 사료된다.

#### IV. 결 론

CCl<sub>4</sub>로 유발된 간기능 장애에 대하여 오미자 열매의 물추출물 투여량 변화에 따른 혈청 중의 Transaminase activity 변화와 간과 혈청에서의 오미자 열매의 물추출물의 효능을 관찰하기 위하여 대사산물과 효소활성 변화를 측정하였다.

원료 오미자 1g에 해당되는 오미자 열매의 물추출물에서 CCl<sub>4</sub>로 인해 상승된 GPT, GOT 수준을 현저히 감소시키는 효과가 있었다.

간에서 microsomal protein과 glycogen함유 수준을 증가시켜 주고, pyruvate수준으로 감소시켜 주어 CCl<sub>4</sub>로 유발된 protein, carbohydrate 대사장애를 촉진시켜 주는 효과를 나타내었다.

혈청에서 Urea nitrogen, GPT, GDT, LDH의 수준을 감소시켜 주는 간기능 촉진효과가 있었다.

반면에 CCl<sub>4</sub> 투여로 인해 저해된 간에서의 Glucose-6-phosphate dehydrogenase 활성도와 혈청에서의 Free fatty acid의 수준에는 오미자 열매의 물추출물 투여로써 대사개선효과에 영향을 미치지 못했다.

#### 참고문헌

- Kato, R.: *Xenobiotica*, 7, 25 (1977).
- Williams, R.L.: *New Engl. J. Med.*, 309, 1616 (1983).
- Meindert, D., Masafumi, H. and Gerhard, L.: *J. of Pharmaceutical Sciences* 74(3), 321 (1985).
- 小林立德: *日藥理誌*, 61, 333(1966).
- Noguchi, T., Feng, K.L., Lai, E.K., Olson, L. and McCay, P.B.: *Biochem. Pharm.* 31(5), 609 (1982).
- Toda, S., Kimura, M., Ohnishi, M., Nakashima, K., Ikeya, Y., Taguchi, H. and Mitsuhashi, H.: *ShoYakugaku Zasshi, Japan*, 42(2), 156 (1988).
- Richard, H., O.R.: *Life Sciences*, 33, 401 (1983).
- Abe, H., Orita, M., Konishi, H., Arichi, S. and Odashima, S.: *J. Pharm. Pharmacol.* 37, 555 (1985).
- Bao, T.T., Xu, G.F., Tao, G.T., Sun, R.H., and Song, Z. Y.: *Acta Pharm. Sinica*, 14, 1 (1979).
- Maeda, S., Takeda, S., Miyamoto, Y., Aburada, M. and Harada, M.: *Japan. J. Pharmacol.* 38, 347 (1985).
- Hikino, H., Kiso, Y., Taguchi, H. and IkeYa, Y.: *Planta medica* 50(3), 213 (1984).
- 이정숙, 이미경, 이성우: *한국식물화학회지*, 4(2), 173(1989).
- Abe, H., Sakaguchi, M., Odashima, S. and Arichi, S.: *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 320, 266 (1982).
- Richard, O.R.: *pharmacol. Rev.*, 19, 145 (1962).
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *J. Biol. Chem.*, 193, 265 (1951).
- Clark, J.M., Switzer, R.L.: *Experimental Biochemistry*, W.H. Freeman and Co., San Francisco, (1977).
- Marbach, E.P., Weil, M.H.: *Clin Chem.*, 13, 314 (1967).
- Huckabee, W.E.: *J.Clin. Invest.*, 37, 255 (1958).
- Lohr, G.W. and Waller, H.D.: *Methods of Enzymatic analysis*, Academic Press, N.Y. 636 (1983).
- Searcy, R.L.: *Amer. J. of Med. Tech.*, 33, 15 (1967).
- Hosaka, K.: *J. Biochem.*, 89(6), 1199 (1981).
- Reitman, S., Frankel, S.: *Amer. J. Clin. Pathol.*, 28, 56 (1967).
- Wroblewski, F., Ladue, J.S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 90, 210 (1955).
- 김우철, 김재주, 박성현, 박홍래, 송문섭, 정한영, 최지훈: *현대통계학*, 영지문화사, p. 154(1980)
- 윤향빈, 신만련: *우석의대잡지*, 5(2), 209(1968).
- Sumckler, E.A. and Benditt, E.P.: *Biochemistry*, 4, 671 (1965).
- David, H.A., Michael, S. and Kurt, J.I.: *Mol.*

*Pharmacol.*, 4, 566 (1968).

28. 相賀徹夫 : 중약대사전 제 2권 소학관, 동경 p. 869 (1985).

29. 竹田 茂文, 前村 俊一, 須藤 和彦, 加瀬 義夫, 新井 一郎, 大倉 靖史, 布野 秀二, 藤井 祐一, 油田 正樹, 細谷 英吉 : 日藥理誌, 87, 169(1986)