

## 루틴과 헤스페리딘이 간 독성을 일으킨 흰쥐의 cholesterol 함량, transaminase, alkaline phosphatase 효소활성에 미치는 영향

손홍수 · 김현숙 · 주진순  
한림대학교 한국영양연구소

**초록** : 사염화탄소(carbon tetrachloride, 이하  $CCl_4$ 라함)에 의한 간 중독시 flavonoids가 미치는 영향을 보기 위하여  $CCl_4$ 를 투여한 뒤 rutin, hesperidin을 주사하여 경시적으로 간 microsome과 혈청중 total cholesterol, transaminase(GOT, GPT) 및 alkaline phosphatase(Alk. P) 활성도를 측정 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

(1) 간장중 total cholesterol 함량은 rutin과 hesperidin 1회 투여후 1일에 대조군과 비교할 때 감소하다가 2일에 45%까지 증가되었으나 4일 후에는 정상으로 완전히 회복 되었다. 이와 같은 현상은 혈청중 cholesterol 함량에도 직접적으로 영향을 주어 시간이 경과함에 따라 어느정도 저하됨을 알 수 있었지만 혈청중에서 positive한 결과를 얻기는 어려웠다.

(2) 간의 microsome 분획의 Alk. P 활성도는 대조군의 활성치에 비하여 2일에 급격히 증가를 보인 후 4일만에 대조군보다 낮은 활성을 보이다가 6일까지 완만하게 증가하였다. 그러나 본 연구에서 Alk. P 활성도는  $CCl_4$  투여군과 비교할 때 flavonoids 투여후 별다른 변동은 없었다. 그러나 혈청중 Alk. P 활성도는 hesperidin 투여로 인하여 저하 효과를 나타냈다.

(3) GPT 활성도를 측정한 결과 간의 microsome 분획에서는 hesperidin 2회 투여에서, 그리고 혈청중 GPT 활성은 rutin과 hesperidin 두군 모두에서 아주 낮은 활성을 보여 flavonoids가  $CCl_4$  투여로 인한 간독성을 해독하는 작용이 있음을 보여 주었다.

(4)  $CCl_4$  독성을 일으킨 흰쥐의 간 microsome내 GOT 활성은 rutin 투여로 인하여 불규칙한 변동을 보여 rutin이 GOT 활성에 별다른 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 또한 hesperidin 투여군에서는 증감의 변동없이 대조군치와 거의 비슷한 수준을 유지하였지만  $CCl_4$  투여군과 비교할 때 낮은 활성을 보였다. 혈청중에서 GOT 활성은 flavonoids 1회 투여군에서는 4일만에, 2회 투여군에서는 6일만에 서서히 영향을 미침을 알 수 있었다.

이상과 같이  $CCl_4$ 에 의하여 상승되는 total cholesterol, GPT, GOT, Alk. P의 활성도는 flavonoids중 rutin과 hesperidin 성분이 감소시키는 작용이 있는 것으로 보이며, 특히 hesperidin 성분은  $CCl_4$  중독을 억제 또는 방어하고 치료에 효과가 있는 것으로 본다(1991년 11월 5일 접수, 1991년 11월 19일 수리).

천연물중에는 flavonoid계 색소, phenol계 및 방향족 amine 등 생리활성을 나타내는 물질이 많은데,<sup>1-3)</sup> 이 가운데 자연계에 널리 분포하고 있는 flavonoid는 담황색 내지는 노란색을 띠고 있는 색소 화합물로서 자연에서는 유리상태로도 존재하나 대개의 경우 rhamnose, glucose, rutinose 등의 당류와 결합하여 배당체의 형태로 존재하며 이들 배당체들은 보통 식물조직의 표피에 존재하는 것으로 알려져 있다.<sup>4)</sup> 이와 같은 flavonoid는 식품산업의 식품가공면에서 식품의 가열조리시의 색깔변화, 금속과

의 복합체 형성<sup>5-7)</sup> 및 지질과산화물의 형성억제와 노화의 지연 등에도 관계되어 있는 항산화 효과,<sup>1,8,9)</sup> 그리고 항당뇨 활성<sup>2)</sup>이나 혈압강화 작용<sup>10-12)</sup>에 관한 연구보고들이 발표 되었다.

Bioflavonoids의 의학적인 용어에 대해서는 1936년에 Szent-Gyorgyi가 처음 발표한 이후 여러 연구자들에 의해 시도 되었다. 즉, 이들은 정상적인 모세혈관의 투과성(permeability)을 유지하는데 필요한 물질들이 있음을 밝히고 이들 물질에 대해서 vitamin P라고 명명하였으며,

이 vitamin P가 부족할 때에는 모세혈관이 취약해져서 혈관을 통해서 쉽게 단백질이 유출되고, 또 쉽게 출혈 현상이 일어난다고 하였다. 그러나 bioflavonoids는 다른 동물이나 사람의 식이에서 필수적이라고 여겨지지 않기 때문에 vitamin이라고 할 수 없다.<sup>13)</sup> Hesperidin과 그 chalcone, rutin, quercetin들이 이와 같은 vitamin P 작용이 있음이 알려져 있다.<sup>14)</sup> 그후 bioflavonoids의 생물학적 활성, 약리적인 효과 및 의학적 이용에 대해서 여러 논문들이 발표 되었다. 즉 bioflavonoids중 quercetin은 여러 종류의 tumor cell의 성장 및 분화를 저해시키는 antitumor activity 효과<sup>15)</sup>를 나타내고 있으며, 최근의 연구에서는 quercetin, kaempferol 등이 tumor cell의 핵산합성 및 RNA polymerase II에 의한 전사를 저해한다고 하였다.<sup>16)</sup> 또한 (-)epigallocatechin, myricetin, quercetin 등은 DNA-dependent DNA와 DNA polymerase의 효소활성을 저해한다고 하였으며,<sup>17)</sup> quercetin과 rutin 등이 적혈구 세포 응고를 감소시키는 방어작용이 있다고 보고되고 있으며,<sup>18)</sup> Wooden 등<sup>19)</sup>이 thoroughbred 상태의 말의 성장발달에 hesperidin이 미치는 영향을 규명하려는 시도 등의 연구보고들은 많으나 bioflavonoids중 rutin, hesperidin에 의한 간 해독작용에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다.

사염화탄소(이하 CCl<sub>4</sub>라 함)는 실험적으로 간 손상에 가장 많이 이용되는 독성물질로써 CCl<sub>4</sub> 중독시 가장 뚜렷한 병리학적 변화는 간의 지방변성 및 간 손상이고, Hoffman 등<sup>20)</sup>은 CCl<sub>4</sub>를 1회만 투여한 실험동물에서는 24시간 후에 간의 소엽 중심대에 기한 괴사성 병변을 나타내다가 약 1주일 후에는 손상부위가 거의 원상으로 회복된다고 보고하였다. 그리고 CCl<sub>4</sub> 중독으로 간이 손상되면 담즙산의 형성이 방해되고 혈중 cholesterol량이 상승한다고 보고한 바 있고,<sup>9,21)</sup> CCl<sub>4</sub>가 간세포 mitochondria의 투과성을 향진시켜 효소계에 이상을 초래한다고 하였다.<sup>21-25)</sup> 또한 한 등<sup>23,26)</sup>은 CCl<sub>4</sub> 중독에 의해 급격히 상승되었던 S-GOT 등의 효소활성이 sulfadimethoxine의 투여에 의해 지연 되었음을 관찰하여 CCl<sub>4</sub>에 의한 급성 간 손상이 이 약제에 의해 억제 된다고 보고하였고, 인삼 엑기스 투여가 CCl<sub>4</sub>에 의한 간과 혈중 total cholesterol을 현저히 감소시켰다고 하였다.<sup>9,25)</sup>

이에 본 연구는 실험동물을 대상으로 하여 CCl<sub>4</sub>투여한 뒤 flavonoids중 rutin과 hesperidin을 주사하면서 혈청과 간 microsome내 transaminase, alkaline phosphatase 및 total cholesterol 등의 변동을 관찰하여 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

실험에 사용한 동물은 동일한 환경에서 같은 조건으로 사육한 체중 100g내지 150g의 Sprague-Dawley계 수컷 84마리를 대상으로 하여 21개군으로 나누고 각군은 비슷한 체중별로 3~4마리를 한군으로 하였다. 사육은 한 cage에 3~4마리씩 넣고 식이와 물은 자의로 섭취케 하였으나 희생하기 12시간 전에 식이급식을 제한하였다. 또한 사육실 온도는 23±1°C, 습도는 70% 전후로 유지 하였다.

실험군은 실험조건에 따라 21개군을 다음과 같이 6군의 실험군으로 나누고 이를 다시 관찰하고자 한 대상일에 따라 각 실험군을 1, 2, 4, 6일군으로 나누었다.

#### 1) 대조군

아무 약제도 투여하지 않고 희생한 군

#### 2) CCl<sub>4</sub> 투여군

CCl<sub>4</sub>를 단 1회만 복강내 주사한 후 1, 2, 4, 6일만에 희생한 군(이하 CCl<sub>4</sub>군이라 약칭함)

#### 3) CCl<sub>4</sub> 투여후 rutin 1회 투여군

CCl<sub>4</sub>를 단 1회 복강내 주사후 rutin을 복강내 주사하였고 1, 2, 4, 6일만에 희생한 군(이하 CCl<sub>4</sub>+RI군이라 약칭함)

#### 4) CCl<sub>4</sub> 투여후 hesperidin 1회 투여군

CCl<sub>4</sub>를 단 1회 복강내 주사후 hesperidin을 복강내 주사하였고 1, 2, 4, 6일만에 희생한 군(이하 CCl<sub>4</sub>+HI군이라 약칭함)

#### 5) CCl<sub>4</sub> 투여후 rutin 2회 투여군

CCl<sub>4</sub>를 단 1회 복강내 주사후 rutin을 2회 복강내 주사하였고 1, 2, 4, 6일만에 희생한 군(이하 CCl<sub>4</sub>+RII군이라 약칭함)

#### 6) CCl<sub>4</sub> 투여후 hesperidin 2회 투여군

CCl<sub>4</sub>를 단 1회 복강내 주사후 hesperidin을 2회 복강내 주사하였고 1, 2, 4, 6일만에 희생한 군(이하 CCl<sub>4</sub>+HII군이라 약칭함)

### Flavonoids 성분과 CCl<sub>4</sub>의 투여방법

Rutin과 hesperidin은 소량의 absolute alcohol에 녹인 후 증류수에 희석시켜 이 희석액 1ml당 flavonoids 성분이 20mg 포함 되도록 조제하고 동물 체중 100g당 1회에 1ml씩을 복강내 주사하였다.

한편 CCl<sub>4</sub>는 Junsei(99.5%) 일급시약을 구입하여 olive oil에 2배(CCl<sub>4</sub> : olive oil = 1 : 1)로 희석시킨 것을 1회에

동물체중 100g당 CCl<sub>4</sub>가 50 mg 포함되게 하여 복강내 주사하였다.

**시료채취**

기본 사료로 사육한 실험동물을 혈액 채취를 위하여 12시간 절식시킨 뒤 urethane(1g/kg)으로 마취시키고 개복한 뒤 복부대동맥으로부터 채혈하여 응고시킨 후 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 혈청을 얻었으며 간장을 적출하여 무게를 측정하였다.

1) 간의 microsome 조제

적출한 간은 미리 냉각된 생리식염수를 관류시켜 혈액을 완전히 제거한 후 세척하고 잘게 썰어 그중 약 1g을 취하여 10배(w/v)의 냉각된 0.15 M KCl 용액(pH 7.4)을 넣어 teflon glass-homogenizer(B. Braun Melsungen AG사 제품, Potter S-homogenizer)로 4°C에서 1,200 rpm의 속도로 2회 왕복 마쇄하여 균질액을 만들었다. 그리고 이 균질액을 취하여 15,000g에서 30분간 원심분리시켜서 얻은 상등액에서 부유층을 제거하고 다시 100,000g에서 60분 동안 초고속 원심분리시켜 microsome을 침전시켰다. 이렇게 얻은 microsome 층은 0.15 M KCl (pH 7.4) 완충액으로 세척한 후 3ml의 용량이 되게 현탁시켜 실험에 사용하기 전까지 초저온 냉동고(-70°C)에 보관하였다.

**시료 측정 방법**

1) 간중 total cholesterol 측정

간 시료 일정량을 칭량하여 5 ml saline으로 homogenize한 다음 chloroform : methanol(2 : 1) 20 ml 용액으로 Folch's method<sup>27)</sup>에 의하여 lipid를 추출한 다음 효소에 의한 측정 kit를 사용하여 total cholesterol을 측정하였다.

2) 혈청중 total cholesterol 측정

혈청중의 total cholesterol 농도는 효소법에 의한

Wako사 kit를 이용하여 측정하였다.

3) 효소 활성도 측정

혈청 및 간 세포분획의 alkaline phosphatase(이하 Alk. P라 약칭함) 활성도 측정은 효소법에 의한 Wako사 kit를 이용하여 Kind와 King<sup>28)</sup>의 법에 준하여 활성을 측정하였으며 단위는 1분간에 1 ml의 혈청 또는 단백질이 반응하여 생성한 phenol을 n mol로 나타내었다.

혈청과 간의 transaminase로는 GOT 및 GPT 활성도를 Reitman-Frankel 법<sup>29)</sup>에 준하여 측정하였으며 Karmen unit로 표시하였다. 또한 본 실험에서는 채택한 효소활성도 측정법의 정확도를 높이기 위하여 같은 시료에 대해 2회 측정하여 그 평균치를 취하였으며, 사용한 분광 광도계는 Beckman DU-65 spectrophotometer였다.

4) 단백질 정량

효소액중의 단백질정량은 Biuret 방법<sup>30)</sup>에 의해서 측정하였으며 이상의 실험결과는 student t-test에 의하여 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**간중 total cholesterol 함량**

각군 및 각 기간별로 간중 total cholesterol을 정량한 결과는 Table 1에 표시한 바와 같고 이 수치를 대조군에 기준하여 표시한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

여기서 flavonoids 투여후의 영향을 살펴보면, rutin과 hesperidin 1회 투여후 1일에는 대조군에 비해 각각 23.6,

Table 1. Effects of bioflavonoids on total cholesterol concentration in the liver of CCl<sub>4</sub> treated rats (mg/g of liver, Mean±S.D.)

Term(day) Group	1	2	4	6
Control	18.2±1.9			
CCl <sub>4</sub>	18.0±2.2	18.1±2.6	16.1±3.6	16.1±3.6
CCl <sub>4</sub> +RI	13.9±1.7	25.2±6.3	15.1±2.9	14.2±1.4
CCl <sub>4</sub> +HI	15.5±0.7	18.6±0.5	13.9±2.5	13.2±2.5
CCl <sub>4</sub> +RII	20.8±3.9	21.1±1.0	17.9±2.4	14.1±1.7
CCl <sub>4</sub> +RIII	19.4±1.3	21.2±4.6	15.3±4.3	17.9±0.4

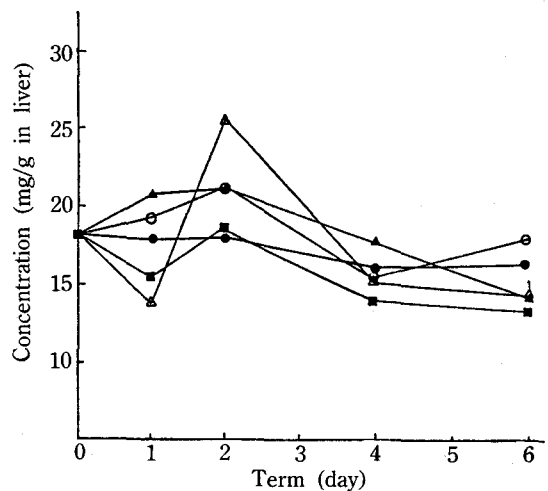


Fig. 1. The changes of total cholesterol in the liver. ●-● : CCl<sub>4</sub>, ▲-▲ : CCl<sub>4</sub>+RII, △-△ : CCl<sub>4</sub>+RI, ○-○ : CCl<sub>4</sub>+HI, ■-■ : CCl<sub>4</sub>+HI

14.8% 감소하였다가 2일만에 각각 45.5, 16.7% 증가하였고 4일 후에는 대조군에 비해 훨씬 낮은 cholesterol 함량을 보여 flavonoids 효과를 보여 주었다. 이는 강 등<sup>21)</sup>의 보고와 일치하였으며, 마찬가지로 rutin과 hesperidin 2회 투여군에서도 1회 투여군과 같은 증감의 변동을 보이고 있지만 1회 투여군에 비해 약간 높은 수치를 보이고 있다.

이와 같은 사실은 Hoffman 등<sup>20)</sup>의 보고 즉, CCl<sub>4</sub> 중독시 24시간내에 간의 소엽 중심대에 비정상적 괴사성 병변을 나타내다가 약 1주일 후에는 손상 부위가 원상으로 회복된다는 사실과 관련되는 현상이라 생각된다.

결과적으로 CCl<sub>4</sub> 단독 주사군과 비교할 때 CCl<sub>4</sub> 중독에 의해 일어나는 급격한 cholesterol 양의 증가가 flavonoids 성분을 투여함으로써 방지될 수 있었음을 알 수 있었다.

**혈청중 total cholesterol 함량**

혈청중 total cholesterol을 정량한 결과는 Table 2와 Fig. 2에서 보는 바와 같다. 전체적으로 보면 각군 모두 대조군에 비하여 1일에 11% 내지 24% 감소되는 현상을 보였다가 2일만에 CCl<sub>4</sub>군, CCl<sub>4</sub>+HII군, CCl<sub>4</sub>+RII군에서, 4일에는 CCl<sub>4</sub>+RI군, CCl<sub>4</sub>+HII군에서 많은 증가를 보였다. 이와 같은 현상은 간장중 cholesterol 함량 변동과 비슷한 경향으로 간중 total cholesterol 함량의 증감이 직접 혈청중에 영향을 미쳤다고 보여진다. 그러나 CCl<sub>4</sub> 주사군은 대조군에 비하여 점차 증가하여 4일만에 최고치를 보였으나 6일 이후에는 회복되지 않았다. 이는 Wooden 등<sup>19)</sup>이 제안한 바와 같이 stress와 관련된 문제에서는 positive한 결과를 기대하기 어렵기 때문인 것으로 여겨진다.

이상의 결과로 미루어 혈청중 cholesterol 농도는 CCl<sub>4</sub> 투여로 대조군에 비하여 상승되었으나 시간이 경과함에 따라 유의하지는 않았지만 어느 정도 저하 되었으며 이는 박 등<sup>9)</sup>이 제안한 바와 같이 rutin, hesperidin같은 flavo-

noids계의 항산화 작용에 의한 것으로 알려져 있다.

**Alkaline phosphatase 활성도**

각 실험군을 각 기간별로 간의 microsomal Alk. P와 혈청내 Alk. P 활성을 측정하여 표시한 결과는 Table 3 및 Fig. 3과 같다.

쥐간의 microsomal Alk. P 활성도를 살펴보면 CCl<sub>4</sub>군에서는 대조군의 활성치 157.62±42.49에 비하여 1일에 35.1%의 급격한 증가를 보였고 4일 이후에는 완전히 회복되어 대조군 보다는 낮은 경향이였다. 그러나 CCl<sub>4</sub> 투여후 flavonoids의 영향을 살펴보면, CCl<sub>4</sub>+HII군을 제외한 모든 군에서 대조군의 활성치에 비하여 2일에 급격히 증가를 보인 후 4일에 대조군에 비해 낮은 수치를 보이며 감소하였고 완만한 증가를 보였다. 그러나 CCl<sub>4</sub>+HII군에서는 1일만에 14.7%의 증가를 보이며 별 변동이 없었으나 6일에는 다시 216.22±0.00으로 현저한 증가를 나타내었다. 그러나 본 연구에서 쥐간의 microsomal Alk. P 활성도는 CCl<sub>4</sub> 투여군과 비교할 때 flavonoids

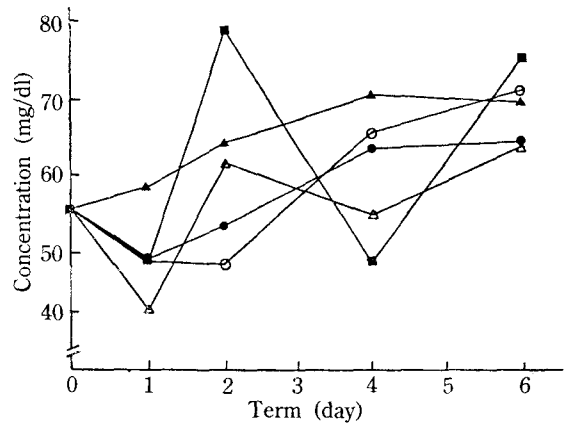


Fig. 2. The changes of total cholesterol in the serum. ▲-▲ : CCl<sub>4</sub>, ■-■ : CCl<sub>4</sub>+RII, ○-○ : CCl<sub>4</sub>+RI, ●-● : CCl<sub>4</sub>+HII, △-△ : CCl<sub>4</sub>+HI

Table 2. Effects of bioflavonoids on total cholesterol concentration in the serum of CCl<sub>4</sub> treated rats (mg/dl, Mean±S.D.)

Term(day)	1	2	4	6
Control	55.68±18.48			
CCl <sub>4</sub>	58.41±42.82	64.12±13.13	70.49±14.88	69.36±13.94
CCl <sub>4</sub> +RI	48.93±29.37	47.38±5.99	65.29±22.40	70.88±4.29
CCl <sub>4</sub> +HI	42.44±13.14	61.92±7.36	54.91±24.54	63.65±8.31
CCl <sub>4</sub> +RII	49.19±26.52	78.54±24.86	48.54±3.82	75.77±2.41
CCl <sub>4</sub> +HII	48.80±12.07	53.48±11.99	63.61±16.45	64.61±25.97

투여후 별 변동이 없었다.

CCl<sub>4</sub> 중독을 시킨 흰쥐에서 flavonoids 성분을 주사했을 때 혈청 Alk. P 활성도의 변동은 Table 4와 Fig. 4와 같다. CCl<sub>4</sub>군은 대조군의 활성치에 비하여 1일에 낮은 경향을 보인 후 2일에 급격히 증가하였고 6일 이후까지

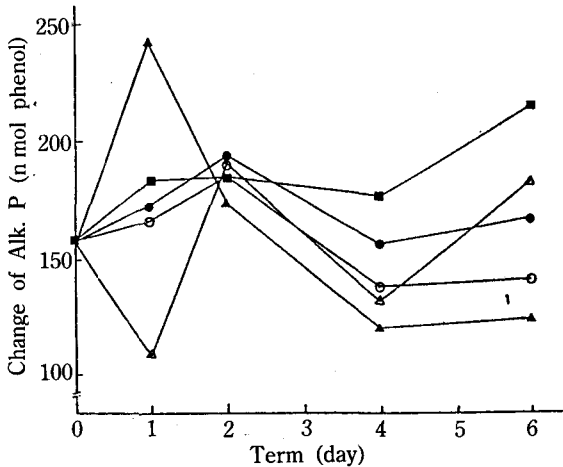


Fig. 3. The changes of alkaline phosphatase activities in the liver.

▲-▲ : CCl<sub>4</sub>, ●-● : CCl<sub>4</sub>+RII, △-△ : CCl<sub>4</sub>+RI, ■-■ : CCl<sub>4</sub>+HII, ○-○ : CCl<sub>4</sub>+HI

별 변동이 없이 그대로 유지되었다. CCl<sub>4</sub>+RI군에서는 대조군의 활성치에 비하여 1일에 11.7% 증가하였으나 2일 이후에는 불규칙한 변동을 보이고 있어 Wooden 등<sup>19)</sup>이 제안한 바와 같이 stress와 관련된 이유라 여겨진다. 그러나 CCl<sub>4</sub>군의 수치보다는 낮은 경향을 보이고 있다. CCl<sub>4</sub>+HI군은 4일에 최고치에 도달하였다가 6일 이후에 감소하는 양상을 띠고 있지만 대조군과 CCl<sub>4</sub>군에 비교할 때 Alk. P 활성도가 현저하게 저하 되었음을 볼 수 있었다. 결론적으로 hesperidin이 CCl<sub>4</sub>로 인하여 간 손상을 입은 흰쥐의 혈청 Alk. P 활성도를 저하시키는 효과를 갖고 있음을 알 수 있었다. CCl<sub>4</sub>+RII군과 CCl<sub>4</sub>+HII군에서는 마찬가지로 4일만에 가장 높은 수치를 보였다가 다시 감소하는 경향을 보이고 있지만 대조군과 CCl<sub>4</sub>군에 비해 높은 수치를 보이고 있다. 그러나 CCl<sub>4</sub>+RII군과 CCl<sub>4</sub>+HII군을 비교할 때 두군 모두 2회 투여로 인한 stress 때문에 활성도가 높기는 하지만 hesperidin 투여군에서 상대적인 저하를 보여주고 있다.

Transaminase 활성도

1) Glutamic pyruvic transaminase 활성

간의 GPT 활성도를 측정된 결과는 Table 5와 Fig. 5에 나타내었다. Flavonoids가 손상된 흰쥐의 간 GPT 활성도에 미치는 영향을 살펴보면, CCl<sub>4</sub>군에서는 1일에 대

Table 3. Effects of bioflavonoids on liver microsomal Alk. P activity in CCl<sub>4</sub> treated rats

(n mol phenol·mg protein<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>, Mean±S.D.)

Group	Term(day)	1	2	4	6
Control		157.62± 42.49			
CCl <sub>4</sub>		242.79± 206.27	175.39± 58.27	120.21± 15.15	125.32± 7.59
CCl <sub>4</sub> +RI		109.16± 16.04	191.46± 49.53	131.51± 11.88	183.21± 27.56
CCl <sub>4</sub> +HI		166.26± 19.64	186.52± 65.20	138.83± 12.23	142.04± 24.89
CCl <sub>4</sub> +RII		173.99± 18.98	194.07± 36.92	156.73± 60.81	167.40± 19.95
CCl <sub>4</sub> +HII		184.88± 11.82	186.45± 70.15	177.12± 13.69	216.22± 0.00

Table 4. Effects of bioflavonoids on serum Alk. P activity in CCl<sub>4</sub> treated rats

(King-Armstrong, Mean±S.D.)

Group	Term(day)	1	2	4	6
Control		59.70± 16.96			
CCl <sub>4</sub>		43.44± 5.34	74.86± 25.18	73.01± 19.46	74.84± 21.64
CCl <sub>4</sub> +RI		67.59± 15.90	57.36± 12.37	65.64± 24.65	57.41± 15.28
CCl <sub>4</sub> +HI		33.10± 7.77	38.72± 8.71	52.34± 10.19	44.19± 5.97
CCl <sub>4</sub> +RII		82.96± 33.55	79.32± 36.14	114.03± 40.02	40.64± 9.23
CCl <sub>4</sub> +HII		59.72± 33.02	51.08± 2.59	87.99± 57.58	63.28± 30.86

조군의  $228.03 \pm 59.86$  Karmen unit에 비하여 증가하였고 2일에는 다시 감소하다가 4일과 6일에 다시 증가하는 변화율을 보였다. 그러나  $CCl_4$ +RI군은  $CCl_4$  투여군보다 낮은 활성도를 보이며 감소하다가 6일에는  $CCl_4$ 군보다

훨씬 급격한 증가를 보였다. 다른  $CCl_4$ +HII군,  $CCl_4$ +HIII에서는 1일 이후 점차 감소하다가 6일만에 4일에서 보다 증가하는 경향을 나타냈다. 그러나  $CCl_4$ +HIII군은 대조군과  $CCl_4$  투여군에 비해 훨씬 낮은 수치를 나타

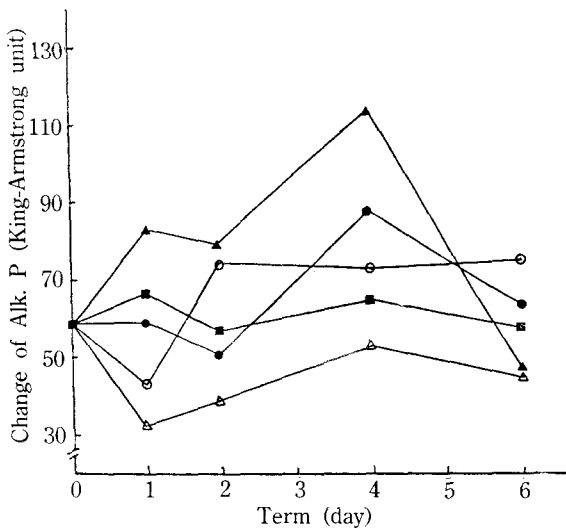


Fig. 4. The changes of alkaline phosphatase activities in the serum.

○—○ :  $CCl_4$ , ▲—▲ :  $CCl_4+RII$ , ■—■ :  $CCl_4+RI$ , ●—● :  $CCl_4+HIII$ , △—△ :  $CCl_4+HI$

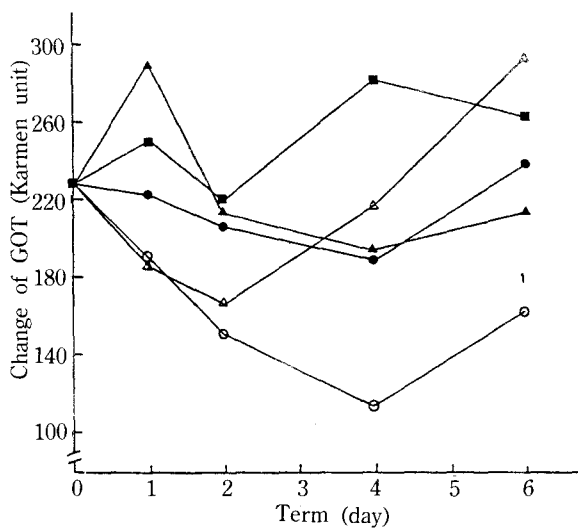


Fig. 5. The changes of glutamic pyruvic transaminase activities in the liver.

■—■ :  $CCl_4$ , ●—● :  $CCl_4+RII$ , △—△ :  $CCl_4+RI$ , ○—○ :  $CCl_4+HIII$ , ▲—▲ :  $CCl_4+HI$

Table 5. Effects of bioflavonoids on liver microsomal GPT activity in  $CCl_4$  treated rats

(Karmen unit, Mean  $\pm$  S.D.)

Group \ Term(day)	1	2	4	6
Control	$228.03 \pm 59.86$			
$CCl_4$	$251.77 \pm 55.14$	$219.78 \pm 71.45$	$270.95 \pm 33.66$	$261.42 \pm 39.69$
$CCl_4+RI$	$186.73 \pm 21.67$	$166.71 \pm 58.90$	$217.72 \pm 51.69$	$292.84 \pm 39.89$
$CCl_4+HI$	$290.83 \pm 99.74$	$213.97 \pm 57.06$	$194.97 \pm 11.82$	$214.56 \pm 49.29$
$CCl_4+RII$	$222.96 \pm 63.01$	$206.16 \pm 49.51$	$189.15 \pm 99.33$	$239.04 \pm 98.24$
$CCl_4+HIII$	$191.17 \pm 50.05$	$151.00 \pm 22.57$	$115.89 \pm 28.97$	$163.57 \pm 0.00$

Table 6. Effects of bioflavonoids on serum GPT activity in  $CCl_4$  treated rats

(Karmen unit, Mean  $\pm$  S.D.)

Group \ Term(day)	1	2	4	6
Control	$50.42 \pm 13.20$			
$CCl_4$	$58.26 \pm 15.48$	$134.36 \pm 69.30$	$47.63 \pm 6.07$	$36.55 \pm 2.65$
$CCl_4+RI$	$47.28 \pm 2.60$	$47.02 \pm 1.59$	$40.68 \pm 3.91$	$39.48 \pm 4.15$
$CCl_4+HI$	$53.71 \pm 18.29$	$68.81 \pm 23.75$	$39.79 \pm 5.17$	$43.50 \pm 3.36$
$CCl_4+RII$	$98.47 \pm 34.69$	$244.03 \pm 143.01$	$118.54 \pm 64.34$	$49.81 \pm 3.59$
$CCl_4+HIII$	$35.54 \pm 8.51$	$45.05 \pm 6.18$	$36.45 \pm 1.32$	$44.18 \pm 3.02$

냈으며, 또한 hesperidin 1회 투여군이 2회 투여군보다 높은 수치를 보여 hesperidin이 CCl<sub>4</sub> 투여로 인한 간 독성을 저해하는 효과가 있음을 다시 한번 입증하였다.

혈청내 GPT 활성을 측정한 결과는 Table 6과 Fig. 6에 나타내었다. CCl<sub>4</sub>군에서 보면 1일에 대조군치에 비하여 약간 증가하였다가 2일에 2.3배로 급격히 증가하다가 4일만에 대조군 50.42±13.20 Karmen unit보다 낮은 수치로 정상회복 되었다. CCl<sub>4</sub> 독성에 rutin이 미치는 영향을 살펴보면 1회 투여군에서는 대조군과 CCl<sub>4</sub>군에 비하여 아주 낮은 활성을 보여 CCl<sub>4</sub> 해독작용이 있음을 알 수 있었다. 그러나 2회 투여군에서는 1일만에 아주 높은 활성을 보여 Wooden 등<sup>19)</sup>이 제안한 바와 같이 2회 투여로 인한 stress와 관련된 문제라고 사료된다. 또한 hesperidin 투여군에서는 1회 투여시 보다는 2회 투여

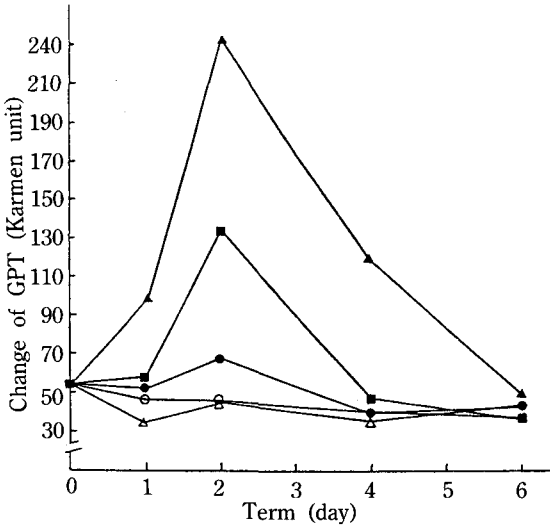


Fig. 6. The changes of glutamic pyruvic transaminase activities in the serum. ■—■ : CCl<sub>4</sub>, ▲—▲ : CCl<sub>4</sub>+RII, ○—○ : CCl<sub>4</sub>+RI, ●—● : CCl<sub>4</sub>+HII, △—△ : CCl<sub>4</sub>+HI

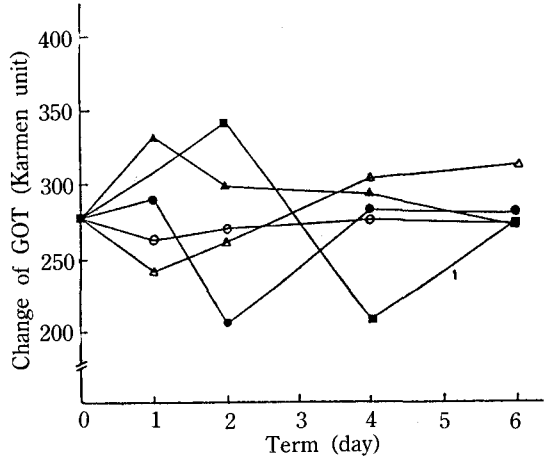


Fig. 7. The changes of glutamic oxaloacetic transaminase activities in the liver. ▲—▲ : CCl<sub>4</sub>, ■—■ : CCl<sub>4</sub>+RII, △—△ : CCl<sub>4</sub>+RI, ●—● : CCl<sub>4</sub>+HII, ○—○ : CCl<sub>4</sub>+HI

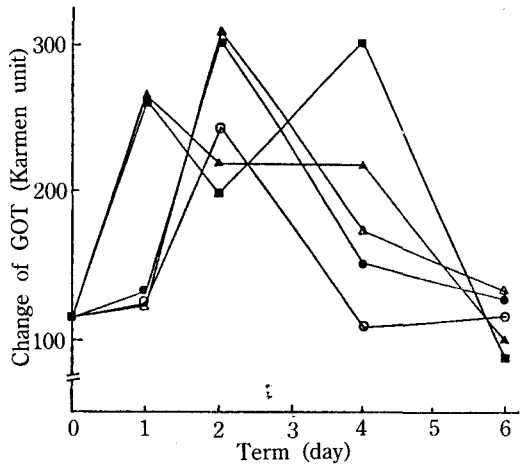


Fig. 8. The changes of glutamic oxaloacetic transaminase activities in the serum. △—△ : CCl<sub>4</sub>, ■—■ : CCl<sub>4</sub>+RII, ●—● : CCl<sub>4</sub>+RI, ▲—▲ : CCl<sub>4</sub>+HII, ○—○ : CCl<sub>4</sub>+HI

Table 7. Effects of bioflavonoids on liver microsomal GOT activity in CCl<sub>4</sub> treated rats

(Karmen unit, Mean±S.D.)

Group	Term(day)	1	2	4	6
Control		277.91±79.91			
CCl <sub>4</sub>		332.53±17.66	297.24±77.17	293.63±14.44	272.03±39.45
CCl <sub>4</sub> +RI		243.79±46.04	262.98±65.28	303.19±28.39	312.19±63.25
CCl <sub>4</sub> +HI		264.76±48.88	270.15±64.89	276.74±29.02	273.74±57.36
CCl <sub>4</sub> +RII		307.30±36.19	342.92±30.79	200.85±9.73	275.38±86.62
CCl <sub>4</sub> +HII		291.26±43.93	206.86±34.29	283.16±59.67	280.93±0.00

Table 8. Effects of bioflavonoids on serum GOT activity in CCl<sub>4</sub> treated rats (Karmen unit, Mean±S.D.)

Group \ Term(day)	1	2	4	6
Control	115.05± 34.52			
CCl <sub>4</sub>	123.34± 7.08	311.05± 66.23	172.17± 25.69	132.65± 9.48
CCl <sub>4</sub> +RI	133.78± 41.40	304.96± 48.48	151.72± 31.60	127.64± 12.61
CCl <sub>4</sub> +HI	134.36± 12.66	243.80± 62.74	109.87± 15.61	116.76± 27.52
CCl <sub>4</sub> +RII	262.09± 67.04	197.01± 88.78	300.77± 125.82	88.27± 26.22
CCl <sub>4</sub> +HII	264.46± 96.73	218.16± 11.15	217.13± 130.50	97.59± 0.00

군에서 낮은 활성을 보여 hesperidin이 CCl<sub>4</sub> 독성을 저하시키는 효과가 있음을 입증하였다. 여기서 알 수 있듯이 rutin과 hesperidin이 stress에 미치는 영향 내지는 치료 효과가 있는지는 차후에 더 검토할 필요가 있을 것 같다.

2) Glutamic oxaloacetic transaminase 활성

Table 7에서 보는 바와 같이 CCl<sub>4</sub> 독성을 일으킨 흰쥐의 간 microsome내 GOT 활성은 CCl<sub>4</sub>군에서 대조군에 비해 1일에 332.53± 17.66 Karmen unit의 높은 활성을 보였으나 점차로 감소하여 6일만에 대조군치와 비슷하게 정상으로 회복되었다. 그러나 flavonoids의 영향을 살펴보면 rutin 1회 투여군에서는 1일 이후 낮은 수치를 보이다가 점차 증가하여 6일에는 CCl<sub>4</sub>군에 비해 13.7%의 증가율을 보였다. CCl<sub>4</sub>+RII군에서는 불규칙한 변동을 보여 rutin이 GOT 활성에 별다른 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 또한 hesperidin 투여군에서는 규칙적인 증감의 변동없이 대조군치와 거의 일정한 수준을 유지

하였으나 CCl<sub>4</sub> 투여군과 비교할 때 낮은 수치를 보이고 있다(Fig. 7).

혈청 GOT 활성을 각 실험군별 및 각 기간별로 측정하여 표시한 결과는 Table 8 및 Fig. 8과 같다. CCl<sub>4</sub>군에서는 1일에 대조군과 비슷한 수치를 보였으나 2일에 311.05± 66.23 Karmen unit으로 급격히 증가하였고 4일 이후에 다시 회복하는 경향을 나타냈다. 이를 flavonoids 투여군과 비교할 때 2회 투여군에서 1일에 높은 활성을 보였다가 2일에 1회 투여군에서 보다 낮은 수치를 보였다. 그러나 4일에 CCl<sub>4</sub>+RII군에서 다시 상승하였지만 6일에는 1회 투여군에서 보다 훨씬 감소하는 폭이 커서 대조군의 활성보다 낮았다.

결과적으로 CCl<sub>4</sub> 투여로 간 기능이 손상된 흰쥐의 혈청내 GOT 활성도에 flavonoids가 미치는 영향을 보면, flavonoids 1회 투여군에서 rutin과 hesperidin의 효과는 4일만에 알 수 있었지만 2회 투여군에서는 6일만에 서서히 활성도에 미치는 영향을 볼 수 있었다.

참 고 문 헌

- 한용봉, 김미라, 한병훈, 한용상 : 생약학회지, 18(1) : 41(1987)
- 홍남두, 노영수, 원도희, 김남재, 조보선 : 생약학회지, 18(2) : 112(1987)
- Hammerschmidt, P. A. and Pratt, D.E. : J. Food Sci., 43 : 556(1977)
- Bate-Smith, E. C. : Advanced in Food Research, Vol. 5, p. 261, Academic Press, New York(1954)
- Arya, S. S., Vidyasagar, K., Gopalan, K. N., Parihar, D. B. and Nath, H. : J. Food Sci. Technol., 10 : 12 (1973)
- Afnas'Ev, I. B., Dorozhko, A. I., Brodskii, A. V., Kostyuk, V. A. and Potapovitch, A. I. : Biochem. Pharm., 38 : 1763(1989)
- Havsteen, B. : Biochem. Pharm., 32 : 1141(1983)
- 김영희, 송동근, 위명복, 강병태 : 한림대학 논문집, 6 : 145(1988)
- 박평심, 이병래, 이명렬 : 한국영양식량학회지, 20(2) : 121(1991)
- 홍남두, 노영수, 김중부, 원도희, 김남재, 조보선 : 생약학회지, 19(2) : 102(1988)
- 문영희, 정명현, 주홍규, 임동윤, 유호진 : 생약학회지, 21(2) : 173(1990)
- 노영수, 홍남두, 조영환 : 생약학회지, 16(2) : 65 (1985)
- Jean, W. and George, M. B. : Flavonoids, 279 (1987)
- Vickery, H. B., Nelson, E. M., Almquist, H. J. and Elvehjem, A. C. : Chem. and Engr. News, 28 : 2827 (1950)
- Manual, H. C., Eddie, P., John, H. C., Ralph, D., James, M. H., Chithan, K. and Elliot, M. : Am. J. Surg., 158 : 351(1989)
- Kiyoshi, N. : Biochem. Pharm., 33 : 3823(1984)



17. Shinozuka, K., Kikuchi, Y., Nishino, C., Mori, A. and Tawata, S. : *Experientia*, 44 : 882(1988)
18. Yashiro, S., Umco, T. and Mitsutaka, K. : *Biochimica et Biophysica Acta*, 799 : 313(1984)
19. Wooden, G. R., Crane, C. S. and Beisel, C. G. : *J. Ani. Sci.*, 59 : 1529(1984)
20. Hoffman, J., Hilmes, M. B. : *A. M. A. Arch. Path.*, 59 : 429(1955)
21. 강지희, 황우익 : *최신의학*, 23 : 139(1980)
22. 신만련 : *고의대지*, 13 : 231(1976)
23. 권준택, 이종화, 최규홍, 조병헌, 김종배, 김유재, 차영덕, 김천숙, 김영석 : *순천향대학 논문집*, 12 : 237 (1989)
24. 박종배, 유충근 : *고의대논문집*, 21 : 101(1984)
25. 민영룡, 유충근 : *고의대논문집*, 19 : 359(1982)
26. 한규상 : *수도의대잡지*, 1 : 139(1964)
27. Jordi Folch-Pi, Less, M. and Sloane Stanley, G. H. : *J. Biol. Chem.*, 226(1957)
28. Kind, P. R. N. and King, E. J. : *J. Clin. Path.*, 7 : 322(1954)
29. Reitman, S. and Frankel, S. : *Am. J. Clin. Path.*, 28 : 56(1957)
30. Terrance, G. C. : In 'The Tools of Biochemistry', p. 51, John Wiley & Sons (1977)

### Effects of rutin and hesperidin on total cholesterol concentration, transaminase and alkaline phosphatase activity in CCl<sub>4</sub> treated rats

Heung-Soo Son, Hyun-Sook Kim and Jin-Soon Ju(Korea Nutrition Institute, Hallym University, Chuncheon 200-010, Korea)

**Abstract :** This study was devised to investigate the effects of flavonoids on carbon tetrachloride toxicity of rats. Through the experiments, the contents of total cholesterol, transaminase(GOT, GPT) and alkaline phosphatase(Alk. P) activities in the liver and serum were determined.

The results obtained are summarized as follows;

(1) The liver cholesterol concentration of flavonoid injected groups were remarkably increased up to 45% at 2 days after CCl<sub>4</sub> injection and then the values were almost recovered to the level of control group at 4 days after CCl<sub>4</sub> injection. The increase of serum cholesterol content was inhibited by the flavonoids after CCl<sub>4</sub> injection, but the result was not significant.

(2) Flavonoids injection was found to have the ability to decrease the elevated serum GOT, Alk. P activities resulting from injection of CCl<sub>4</sub> and induce rapid recovery from such an elevated level and the extent of such a decreasing action was greatest in hesperidin injection group. The liver microsomal Alk. P and GOT activities were not affected by the treatment of flavonoids.

(3) The elevated serum and liver microsomal GPT activities induced by CCl<sub>4</sub> injection were inhibited by the injection of flavonoids.