

CCl₄로 독성유발시킨 초대배양 간세포를 이용하여 간세포 보호효과를 나타내는 생약류의 검색

이 준 우 · 최 준 한* · 강 상 모**

일양약품중앙연구소 생물공학연구실, *생약연구실, **전국대학교 공과대학 미생물공학과

Screening of Medicinal Plants Having Hepatoprotective Activity Effect with Primary Cultured Hepatocytes Intoxicated Using Carbon tetrachloride Cytotoxicity

June Woo Lee, Joon Han Choi* and Sang Mo Kang**

Biotechnology Lab., *Natural Products Lab., Il Yang Pharmaceutical Co., Ltd., Yongin 449-900
and **Department of Microbial Engineering, College of Engineering, KonKuk
University, Seoul 110-750, Korea

Abstract—We studied to screen medicinal plants having hepatoprotective activity with the primary cultured rat hepatocytes intoxicated with carbon tetrachloride cytotoxicity.

The lowest concentration and treatment time of carbon tetrachloride giving the greatest intoxication to the primary cultured hepatocytes were observed in 10mM and 60 minutes, respectively. GPT and GOT activity of culture broth of the primary cultured rat hepatocytes intoxicated by CCl₄ cytotoxicity at this condition were increased 135.9% and 178.3% compared with that of the primaries cultured hepatocytes not treated with CCl₄, respectively. This increased GPT activity was inhibited by glycyrrizin, which was known to have hepatoprotective activity, and the inhibition activity was dependent on the concentration of glycyrrhizin.

Forty species among the extracts obtained from 117 species of medicinal plants were shown to have the hepatoprotective activity. Among these 40 species, *Prunus persica*, *Scutellaria baicalensis*, *Astragalus membranaceus*, *Tribulus terrestris*, *Caragana chamlagu*, *Acanthopanax sessiliflorum* and *Achyranthes japonica* were indicated a lower GPT activity than that of *Glycyrrhiza uralensis* containing glycyrrhizin and GPT activity of these were indicated 75.5%, 70.0%, 59.0%, 77.5%, 60.0%, 75.0% and 79.0%, respectively.

Keywords—Primary cultured rat hepatocytes · carbon tetrachloride · GPT activity · hepatoprotective activity · glycyrrhizin · medicinal plants

서 론

우리나라는 전체 국민의 약 10%인 400여만명

이상이 간염 보균자로 알려져 있다.¹⁾ 대개의 간염은 급성으로 발병하여 상당 부분이 만성으로 이행된 후 간경변증가 간암으로 발전되는 질환이므로 간염 바이러스의 퇴치는 의학적 및 사회

적으로 중요한 문제로 인식 되어지고 있다.²⁾

최근 간염백신의 개발로 인하여 간염에 대한 효과적인 예방은 실시되고 있으나, 간염 virus에 만 특이하게 작용할 수 있는 약물의 개발에는 현실적으로 어려움이 있어, 손상된 간세포의 부활, 인체의 면역기능 또는 간 기능을 증진시켜 간접적으로 간염을 치료하려는 시도가 많이 이뤄지고 있다. 이들 중 생약제로부터 분리된 glycyrrhizin, shizandrin 및 silymarin 등은 만성간염 치료제로서 이용되고 있으며, 최근에는 미생물로부터 간염치료제의 개발에 관한 연구도 보고 되고 있다.³⁾

현재까지 간질환에 유효한 물질을 검색 하기 위해서는 실험동물을 이용하여 왔으나⁴⁾, 이 방법은 많은 시간과 비용이 소요되는 단점이 있다. 최근 초대배양 간세포가 본래의 간기능을 거의 그대로 보유하고 있어 간기능 연구에 적합한 것으로 알려져⁵⁻⁷⁾, 실험동물 대신에 초대배양 간세포를 이용하여 간보호 효과를 가진 물질을 검색하려는 시도가 많이 진행되고 있으며⁸⁻¹⁰⁾, 이때 간장 독성 유발 약물로는 CCl_4 ⁷⁾, D-galactosamine,⁸⁾ α -naphthylisothiocyanate,¹¹⁾ $CHCl_3$,¹²⁾ thioacetamide¹³⁾ 등이 사용되는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 생약제로부터 새로운 간염치료제를 개발할 목적으로 CCl_4 가 처리된 초대배양 간세포를 이용하여 이미 간질환치료에 이용되었던 생약과 본 실험실에서 무작위적으로 선발한 생약 117종으로 부터 간세포 보호효과를 검색하였다.

재료 및 방법

시 약

Fetal calf serum과 William's E medium(WEM)은 Gibco사의 제품을, collagenase(type-iv), Hank's balanced salt solution(HBSS, Ca^{2+} , Mg^{2+} -free), penicillin-streptomycin, insulin, dexamethasone, dimethylsulfoxide(DMSO) 및 $CaCl_2$ 등은 Sigma사의 제품을, glycyrrhizin은 동경화성의 제품을, GPT 활성측정 kit는 아산제약의 제품을 각각 사용하였다.

실험동물

본 실험에 사용한 웅성의 Wistar rat(200~250 g)는 삼육축산에서 구입하였다.

생약시료의 제조

경동시장에서 구입한 건조 생약제를 세절한 다음 3배량(w/v)의 물을 가해 100°C에서 4시간 동안 추출하였다. 추출액을 여지(Watmann No. 4)에 여과하여 얻어진 여액을 80°C에서 감압농축한 후 동결건조하여 시료로 사용하였다.

간세포의 분리 및 배양

간세포는 Seglen 방법¹⁴⁾을 변형하여 다음과 같이 분리하였다. Rat에 pentobarbital(40 mg/kg)을 복강 주사하여 마취시킨 다음, 70% EtOH로 소독한 후 쥐의 복부를 열고 미리 실로 매듭한 간 문맥에 catheter(18G×2'')를 장착하였다. 이때 혈액이 나오는 것을 확인하고, 37°C로 예열된 Ca^{2+} , Mg^{2+} -free HBSS(pH 7.2)를 공급하여 주면서 pumping(30 ml/min)을 시작함과 동시에 하대정맥을 절단하여 혈액이 흘러 나오게 하였다. 그동안 상대정맥에 catheter를 장착하고, 하대동맥을 완전히 폐쇄 한 후 1 mM의 $CaCl_2$ 와 0.06%의 collagenase가 함유된 HBSS를 가하여 관류시켰다. 약 10분 정도 순환시키면 Glisson's capsule이 깨지면서 액이 흘러나오는데, 이때 관류를 중단시켰다. 관류가 끝난 후 간조직을 떼어내어 HBSS로 씻어내고 적당량의 HBSS를 가하여 가위로 세절한 다음 나이론망(250 μ m)에 여과하여 간세포를 분리하였다.

분리된 간세포를 WEM 배지를 이용하여 4°C에서 50×g로 2분간 3회 원심분리하여 수세하였다. 0.4%의 trypan blue 용액으로 세포의 생존율을 측정하여 생존율이 85% 이상일때 초기배양 간세포로 사용하였다.

간세포 현탁액에 10% fetal calf serum, penicillin(100 IU/ml), streptomycin(100 μ g/ml), 10^{-6} M dexamethasone 및 10^{-8} M insulin이 함유된 WEM을 가하여 4×10^5 cells/ml되게 조정 한 후, 1 ml을 24-well tissue culture plate (Corning Co.)에 넣어 CO_2 incubator(37°C, 5% CO_2)에서 3시간 동안 전배양하였다. 전배양 후 배지를 갈아 주고 18시간 경과한 다음, 간세포를 실험에 사용하였다.

CCl₄에 의해 유발된 세포독성의 측정

전배양이 끝난 초기 간세포의 배양액을 갈아준 후, 18시간 동안 항온시켜 손상된 세포가 회복되도록 하였다. 회복된 간세포에 EtOH로 용해시킨 CCl₄를 10 μl씩 가하여 최종 농도를 각각 0.5 mM, 2.0 mM, 5.0 mM, 10.0 mM 및 20.0 mM로 조정한 다음 5% CO₂, 37°C에서 10분에서 6시간 동안 항온한 다음 배양액 중의 glutamic pyruvate transaminase(GPT)의 활성을 Reitman-Frankel의 방법¹⁵⁾에 의해 측정하였다.

CCl₄에 의해 유발된 간세포독성에 대한 생약 시료의 보호효과

간세포가 배양된 24-well culture plate(4×10⁵ cells/ml)에 DMSO에 용해된 시료 10 μl(최종농도: 1 mg/ml)를 가하고, EtOH에 녹인 CCl₄를 가해 최종농도가 10 mM되게 조정하여 5% CO₂, 37°C하에서 60분간 배양한 후, 배양액 중의 GPT 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

CCl₄ 농도에 따른 초대배양 간세포의 GPT 활성의 변화

독성유발 약물로 사용한 CCl₄는 cytochrome P-450 mixed function oxidase system에 의해 산화되어 활성이 큰 중간산물(CCl₃ radical)로 변화되고, 이 radical들은 polyunsaturated fatty acid와 반응하여 간 세포에 lipid peroxidation을 일으키거나¹⁶⁾, 세포내의 단백질 또는 지질 등과 같은 macromolecule들과 결합하여 간세포의 과사를 야기시켜¹⁷⁾ 세포내의 GPT가 유리되어 배양액 중의 GPT 활성이 높아지는 것으로 알려져 있다.⁷⁾

초대배양 간세포에 CCl₄를 0.5 mM, 2.0 mM, 5.0 mM, 10.0 mM 및 20.0 mM씩 각각 처리하여 60분간 배양한 다음 배양액의 GPT 활성을 측정한 결과 Fig. 1에서와 같이 0.5 mM에서 10 mM CCl₄가 처리된 세포의 GPT 활성은 CCl₄가 처리되지 않은 대조군에 비해 18.6%에서 37.6%까지 지속적으로 증가 하였으나, 10 mM 이상의 농도에서는 뚜렷한 증가는 관찰되지 않았다.

CCl₄의 반응시간에 따른 초대배양 간세포의

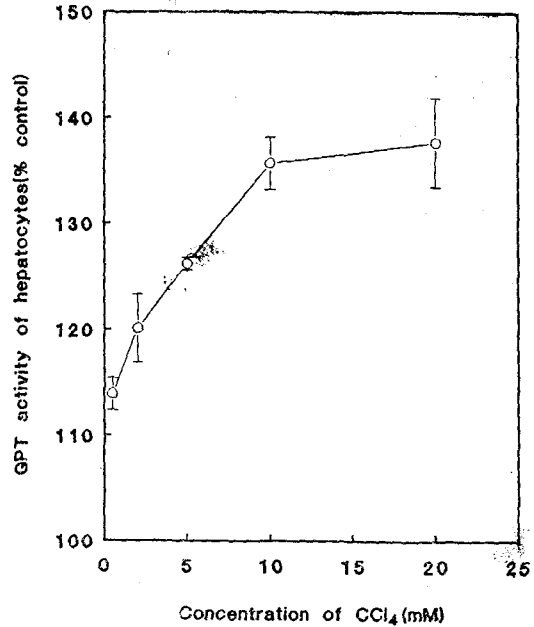


Fig. 1. Effect of concentration of carbon tetrachloride on GPT activity of the primary cultured hepatocytes. Each value was average of the three plates.

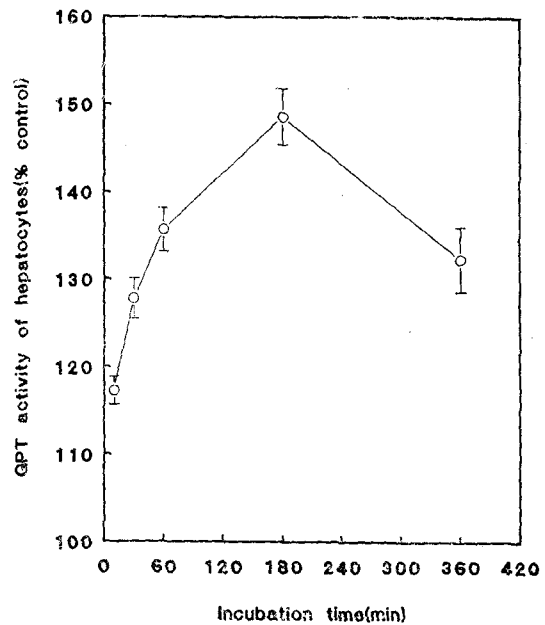


Fig. 2. Effect of treatment time on GPT activity of the primary cultured hepatocytes. Carbon tetrachloride treated was 10 mM. Each value was average of the three plates.

GPT 활성의 변화

10 mM의 CCl₄를 초대배양 간세포에 처리한 후, 시간 경과 별 GPT 활성의 변화를 측정한 결과, Fig. 2에서와 같이 CCl₄를 가한 뒤 10분, 60분 및 180분 후의 GPT 활성은 각각 115.9%, 137.6% 및 144.1%를 나타내어 GPT 활성은 CCl₄가 처리된 시간이 경과함에 따라 증가하였으나, 3시간 이후 부터는 서서히 감소하는 것으로 나타났다. 3시간 이후에 나타나는 GPT 활성의 감소에 대해서는 실험이 실시되지 않아 정확한 원인을 알 수 없으나, 아마도 세포내에서 분비된 효소가 배양액에서 장시간 유지되면서 활성이 약해졌을 가능성과 또는 세포내 분비물체의 효소활성이 저해받았을 가능성이 있을 것으로 생각된다.

Glycyrrhizin이 CCl₄로 처리된 초대배양 간세포의 GPT 활성에 미치는 영향

상기와 같은 CCl₄로 처리된 초대배양 간세포를 이용한 물질의 검색방법과 조건이 생약재로

부터 간세포 보호효과를 검색하는데 응용이 가능한 지를 알아보기 위해, 간염치료에 효과가 있다고 알려진 감초의 성분인 glycyrrhizin을 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/ml씩 가하고 CCl₄ 10 mM의 CCl₄를 처리하여 60분 경과 후 GPT 활성을 측정하여 간세포 보호효과를 알아보았다. Fig. 3에서와 같이 glycyrrhizin의 농도가 증가함에 따라 GPT의 활성이 점차 감소하여 1.0 mg/ml의 농도에서의 GPT 활성은 대조군의 55.8%로 나타났으나, 1.0 mg/ml 이상의 농도에서는 GPT 활성의 폭이 둔화됨을 알 수 있었다.

생약재로 부터 간세포 보호효과의 검색

상기 실험 결과에 따라 생약재로 부터 간세포 보호효과를 검색하기 위해, 초대배양 간세포에 10 mM의 CCl₄와 1 mg/ml의 생약재 시료를 가하여 60분간 배양한 후 배양액의 GPT 활성을 측정하였다.

Table I에서와 같이 민간에서 간질환 치료에 효과가 있다고 알려진 24종의 생약재 중 12종에서 대조군보다 낮은 GPT 활성을 보여 간세포 보호효과가 있는 것으로 나타났으며, 이 중 도인, 황금 및 황기의 GPT 활성은 대조군의 75.7%, 70.0% 및 59.0%로 각각 나타내나, glycyrrhizin을 함유하고 있는 감초추출물의 GPT 활성치인 80.4% 보다 낮아 간세포 보호효과가 우수한 것으로 생각되었다. 그러나 구척, 산사자, 적작약 및 하고초 등 12종에서는 오히려 GPT 활성을 증가시키는 것으로 나타나 오히려 간세포에 해로운 것으로 나타났다.

아직까지 간염치료에 응용되지 않았던 생약 93종에서는 28종이 대조군보다 낮은 GPT 활성을 보여 간세포 보호효과가 있는 것으로 나타났으며, 이 중 우슬, 백질러, 오가피 및 골담초 등의 GPT 활성이 각각 79.0%, 77.5%, 75.0% 및 60.0%로 나타나(Table II), glycyrrhizin을 함유하고 있는 감초추출물의 GPT 활성치인 80.4% 보다 낮아 비교적 우수한 간세포 보호효과가 있을 것으로 추정되었다.

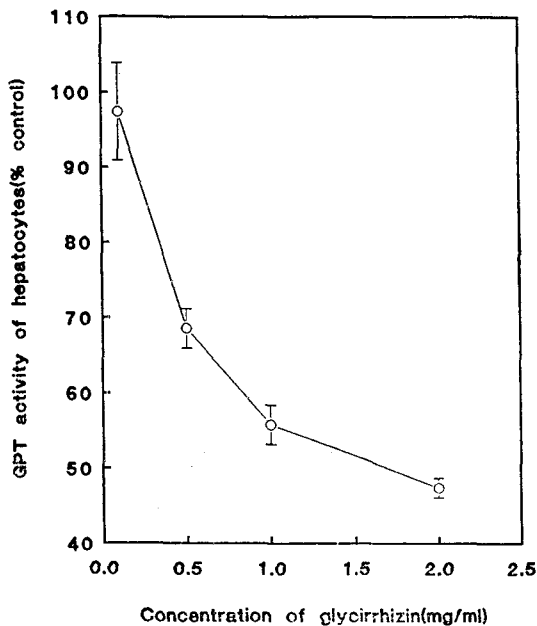


Fig. 3. Effect of glycyrrhizin concentration on GPT activity of the primary cultured hepatocytes intoxicated with CCl₄. The primary cultured hepatocytes was intoxicated with 10 mM carbon tetrachloride for 60 minutes. Each value was average of the three plates.

Table I. Effect of hot water extract of medicinal plants, which was known to be hepatoprotective effect, on the GPT activity of primary cultured rat hepatocytes intoxicated with carbon tetrachloride

Serial No.	Korean name	Family	Species	Parts*	GPT Activity (% Control)
1	목 통	Lardizabalaceae	<i>Akebia quinata</i>	Cl	98.5
2	택 사	Alismataceae	<i>Alisma orientale</i>	Tb	97.5
3	당 귀	Umbelliferae	<i>Angelica gigas</i>	Ra	82.1
4	황 기	Leguminosae	<i>Astragalus membranaceus</i>	Ra	59.0
5	창 출	Compositae	<i>Atractylodis japonica</i>	Rh	118.5
6	시 호	Umbelliferae	<i>Bupleurum falcatum</i>	Rh	127.6
7	산 사 자	Rosaceae	<i>Crataegus pinatifida</i> var. <i>typica</i>	Fr	133.2
8	백 굴 채	Papaveraceae	<i>Chelidonium majus</i>	Hb	99.5
9	구 척	Dicksoniaceae	<i>Cibotium barometz</i>	Rh	150.0
10	청 피	Rutaceae	<i>Citrus unshiu</i>	Pc	118.8
11	황 련	Ranunculaceae	<i>Coptis japonica</i>	Rh	120.6
12	강 황	Zingiberaceae	<i>Curcuma zedoaria</i>	Rh	108.0
13	오 수 유	Rutaceae	<i>Evodia officinalis</i>	Fr	126.0
14	감 초	Leguminosae	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Ra	80.4
15	자 초	Boraginaceae	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	Ra	85.5
16	적 작 약	Ranunculaceae	<i>Paeonia albiflora</i> var. <i>spontanea</i>	Ra	130.5
17	하 고 초	Labiatae	<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>lilacina</i>	Hb	130.0
18	도 인	Rosaceae	<i>Prunus persica</i>	Sm	75.5
19	단 삼	Labiatae	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Ra	98.5
20	오 미 자	Schizandraceae	<i>Schizandra chinensis</i>	Fr	87.5
21	황 금	Labiatae	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Ra	70.0
22	방 기	Menispermaceae	<i>Sinomenium acutum</i>	Ra	95.7
23	고 삼	Leguminosae	<i>Sophora flavescence</i>	Ra	106.9
24	포 공 영	Compositae	<i>Taraxacum platycarpum</i>	Hb	109.7

*Cl: Caulis, Fr: Fructus, Hb: Herba, Pc: Pericarpium, Ra: Radix, Rh: Rhizoma, Sm: Semen, Tb: Tuber.

Table II. Effect of hot water extract of medicinal plants on the GPT activity of primary cultured rat hepatocytes intoxicated with carbon tetrachloride

Serial No.	Korean name	Family	Species	Parts*	GPT activity (% Control)
1	오 가 피	Araliaceae	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	Ct	75.0
2	우 술	Amanthaceae	<i>Achyranthes japonica</i>	Ra	79.0
3	석 황 포	Araceae	<i>Acorus gramineus</i>	Rh	99.5
4	사 삼	Campanulaceae	<i>Adenophora triphylla</i> var. <i>japonica</i>	Ra	103.8
5	노 회	Liliaceae	<i>Aloe ferox</i>	Ex	176.8
6	초 두 구	Zingiberaceae	<i>Alpinia katsumadai</i>	Sm	126.5
7	양 강	Zingiberaceae	<i>Alpinia officinarum</i>	Rh	129.0
8	백 두 구	Zingiberaceae	<i>Amomum cardamomum</i>	Fr	130.5
9	초 과	Zingiberaceae	<i>Amomum tsao-ko et Lemaire</i>	Fr	130.0
10	공 사 인	Zingiberaceae	<i>Amomum xanthioides</i>	Sm	142.0
11	백 렬	Vitaceae	<i>Ampelosis japonica</i>	Ra	92.9

Serial No.	Korean name		Family	Species	Parts*	GPT activity (% Control)
12	백	지	Umbelliferae	<i>Angelica dahurica</i>	Ra	116.0
13	강	활	Umbelliferae	<i>Angelica koreana</i>	Ra	104.0
14	독	활	Araliaceae	<i>Aralia cordata</i>	Ra	87.0
15	빈	랑 자	Palmae	<i>Areca catechu</i>	Pe	130.5
16	천	남 성	Araceae	<i>Arisaema amurense</i>	Tb	85.5
17	마	두 령	Aristolochiaceae	<i>Aristolochia contorta</i>	Fr	118.5
18	애	엽	Compositae	<i>Artemisia asiatica</i>	Hb	118.3
19	동	과 자	Cucurbitaceae	<i>Benincasa hispida</i>	Sm	145.0
20	백	금	Orchidaceae	<i>Bletilla striata</i>	Rh	92.8
21	백	강 잠	Bombycidae	<i>Bombyx mori</i>	Bd	108.0
22	소	목	Leguminosae	<i>Caesalpinia sappan</i>	Lg	521.0
23	골	담 초	Leguminosae	<i>Caragana chamlagu</i>	Ra	60.0
24	산	사	Rosaceae	<i>Crataegus pinnatifida</i>	Fr	136.2
25	소	계	Compositae	<i>Cephalonoplos segetum</i>	Hb	172.9
26	감	국	Compositae	<i>Chrysanthemum indicum</i>	Fl	108.0
27	승	마	Ranunculaceae	<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	Ra	112.0
28	진	피	Rutaceae	<i>Citrus unshiu</i>	Pe	85.5
29	만	삼	Campanulaceae	<i>Codonopsis orientale</i>	Ra	96.0
30	현	호 색	Papaveraceae	<i>Corydalis ternata</i>	Tb	134.1
31	과	두	Euphorbiaceae	<i>Croton tiglium</i>	Sm	149.5
32	봉	출	Zingiberaceae	<i>Curcuma zedoaria</i>	Rh	93.5
33	토	사 자	Convolvulaceae	<i>Cuscuta chinensis</i>	Sm	102.5
34	백	미	Asclepiadaceae	<i>Cynanchum atratum</i>	Ra	107.0
35	석	곡	Orchidaceae	<i>Dendrobium nobile</i>	Hb	135.9
36	산	약	Dioscoraceae	<i>Dioscorea japonica</i>	Rh	110.9
37	시	엽	Ebenaceae	<i>Diospyros kaki</i>	Fm	95.0
38	백	편 두	Leguminosae	<i>Dolichos lablab</i>	Sm	91.0
39	마	황	Ephedraceae	<i>Ephedra sinica</i>	Hb	116.2
40	음	양 과	Berberidaceae	<i>Epimedium koreanum</i>	Hb	117.5
41	속	새	Equisetaceae	<i>Equisetum hyemale</i>	Hb	107.0
42	미	과 엽	Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i>	Fm	107.0
43	두	충	Eucommiaceae	<i>Eucommia ulmoides</i>	Ct	98.5
44	경	향	Myrtaceae	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Fl	149.7
45	대	극	Euphorbiaceae	<i>Euphorbia pekinensis</i>	Ra	107.0
46	연	교	Oleaceae	<i>Forsythia viridissima</i>	Fr	126.5
47	패	모	Liliaceae	<i>Fritillaria thunbergii</i>	Bl	100.0
48	천	마	Orchidaceae	<i>Gastrodia elata</i>	Rh	85.5
49	진	교	Gentianaceae	<i>Gentiana macrophylla</i>	Ra	136.8
50	조	용 담	Gentianaceae	<i>Gentiana scabra</i>	Ra	122.6
51	조	협	Leguminosae	<i>Gleditsia japonica</i>	Fr	174.7
52	방	풍	Umbelliferae	<i>Glehnia littoralis</i>	Ra	85.5
53	대	풍 자	Flacourtiaceae	<i>Hydnocarpus anthelmintica</i>	Sm	91.0
54	모	근	Graminae	<i>Imperata cylindrica</i>	Rh	95.5

Serial No.	Korean name	Family	Species	Parts*	GPT activity (% Control)
55	목향	Compositae	<i>Inula heleinum</i>	Ra	104.0
56	해동피	Araliaceae	<i>Kalopanax pictum</i>	Ct	85.0
57	맥문동	Liliaceae	<i>Liriope platyphylla</i>	Tb	85.5
58	금은화	Caprifoliaceae	<i>Lonicera japonica</i>	Fl	115.0
59	지부자	Chenopodiaceae	<i>Lycopus coreanus</i>	Sm	110.0
60	신이	Magnoliaceae	<i>Magnolia denudata</i>	Fl	122.0
61	고련피	Meliaceae	<i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i>	Ct	99.5
62	박하	Labiatae	<i>Mentha arvensis</i>	Hb	157.6
63	목별자	Cucurbitaceae	<i>Momordica cochinchinesis</i>	Sm	126.0
64	파극	Rubiaceae	<i>Morinda officinalis</i>	Ra	119.1
65	상백피	Moraceae	<i>Morus alba</i>	Ct	97.5
66	감승향	Valerianaceae	<i>Naraostachys chinensis</i>	Rh	112.0
67	연자실	Nymphaeaceae	<i>Nelumbo nucifera</i>	Fr	117.4
68	목단피	Ranunculaceae	<i>Paeonia moutan</i>	Ct	110.0
69	패장근	Valerianaceae	<i>Patrinia villosa</i>	Ra	136.5
70	소엽	Labiatae	<i>Perilla sikokiana</i>	Hb	133.5
71	속단	Labiatae	<i>Phlomis umbrosa</i>	Ra	90.6
72	필발	Piperaceae	<i>Piper longum</i>	Fr	138.8
73	길경	Campanulaceae	<i>Platycodon grandiflorum</i>	Ra	87.5
74	하수오	Polygonaceae	<i>Polygonum multiflorum</i>	Ra	93.5
75	파고지	Leguminosae	<i>Psoralea corylifolia</i>	Fr	138.2
76	갈근	Leguminosae	<i>Pueraria thunbergiana</i>	Ra	115.0
77	석류자	Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Sm	192.6
78	석위	Polypodiaceae	<i>Pyrrosia lingua</i>	Hb	121.0
79	내복자	Cruciferae	<i>Raphanus sativus</i>	Sm	100.0
80	금앵자	Rosaceae	<i>Rosa laevigata</i>	Fr	131.5
81	북분자	Rosaceae	<i>Rubus coreanus</i>	Fr	124.0
82	지유	Rosaceae	<i>Sanguisorba officinalis</i>	Ra	200.6
83	현삼	Scrophulariaceae	<i>Scrophularia buergeriana</i>	Ra	129.7
84	괴화	Leguminosae	<i>Sophora japonica</i>	Fl	124.0
85	산두근	Leguminosae	<i>Sophora subprotrata</i>	Ra	97.5
86	통초	Araliaceae	<i>Tetrapanax papyriferus</i>	Hb	121.5
87	비자	Taxaceae	<i>Torreya nucifera</i>	Sm	119.5
88	백질터	Zygophyllaceae	<i>Tribulus terrestris</i>	Sm	77.5
89	관동화	Compositae	<i>Tussilago farfara</i>	Fl	109.0
90	포황	Typhaceae	<i>Typha orientalis</i>	Po	127.5
91	조구동	Rubiaceae	<i>Uncaria sinensis</i>	Uc	226.5
92	냉초	Scrophulariaceae	<i>Veronicastrum sibiricum</i>	Rh	107.1
93	단형자	Verbenaceae	<i>Vitex rotundifolia</i>	Fr	98.5

*Bd: Body, Bl: Bulbus, Ct: Cortex, Ex: Extract, Fl: Flos, Fm: Folium, Fr: Fructus, Hb: Herba, Lg: lignum, Pc: Pericarpium, Po: Pollen, Ra: Radix, Rh: Rhizoma, Sm: Semen, Tb: Tuber, Uc: Rhamulus et Uncus

결 론

생약재로부터 간세포 보호효과를 검색하기 위해, 초대배양 간세포에 CCl_4 로 독성을 유발시켜 검색에 적절한 조건을 확립한 후, 117종의 생약재에 대한 간세포 보호효과를 검색하여, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 초대배양 간세포에 최소의 농도로 최대의 독성을 유발할 수 있는 CCl_4 의 농도는 10 mM였으며, CCl_4 의 처리시간은 60분 정도가 적당하였다. 이와 같은 조건으로 초대배양 간세포를 반응시킨 후의 배양액의 GPT 활성과 GOT 활성은 각각 대조군에 비하여 135.9%와 178.3%로 나타났다. 간세포 보호효과가 있다고 알려진 glycyrrhizin은 농도에 비례하여 CCl_4 에 의해 유발된 GPT 활성의 증가를 억제하였으며, 1 mg/ml의 glycyrrhizin을 처리한 경우의 GPT 활성은 55.8%로 나타났다.

2. 117종의 생약 열수추출물로부터 간세포 효과를 검색한 결과, 40종의 생약으로부터 간세포 보호효과가 있는 것으로 확인되었으며, 이들 중 glycyrrhizin을 함유하고 있는 감초추출물 보다 낮은 GPT 활성을 보인 것은 도인, 황금, 황기, 백질러, 골담초, 오가피 및 우슬 등 7종으로 이들의 GPT 활성은 각각 75.7%, 70.0%, 59.0%, 77.5%, 60.0%, 75.0% 및 79.0%로 나타났다.

(1992년 10월 17일 접수 : 11월 6일 수리)

참 고 문 헌

1. 김영식, 허봉렬, 안윤옥 : 대한의학협회지 32, 1084 (1989).
2. Lee, H.S., Lim, J., Cho, H.D. and Rhyu, B.: *Kor. J. Inter. Med.* 39, 308 (1991).
3. Yamiko, I., Shimua, S., Mayumi, I., Naoharu, W., Michiro, Y., Masaharu, T. and Kazunori, H.: *J. Antibiot.* 44, 832 (1991).
4. Ohta, S., Kumasaka, M. and Shinoda, M.: *Yakugaku Zasshi* 105, 866 (1985).
5. Forte, T.M.: *Ann. Rev. Physiol.* 46, 403 (1984).
6. Holm, J.A., Soderlund, E. and Dyrberg, E.: *Acta Pharmacol. Toxicol.* 52, 348 (1983).
7. Long, R.M. and Moore, L.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 92, 295 (1988).
8. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H.: *Planta Med.* 49, 222 (1983).
9. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H.: *J. Nat. Prod.* 46, 841 (1983).
10. Lin, C.N., Chung, M.I. and Gan, K.H.: *Planta Med.* 54, 222 (1988); Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Pathol.* 28, 56 (1957).
11. Ishizuka, O., Kumazawa, N., Ohta, S., Kamogagawa, A. and Shinoda, M.: *Yakugaku Zasshi* 112, 174 (1992).
12. Balazs, T., Murray, T.K., McLaughlan, J.H. and Grice, H.C.: *Toxicol. Appl. Pharm.* 3, 71 (1961).
13. Acheson, R.M., Cooper, M.W. and Cox, I.R.: *J. Chem. Soc., Perkin I* 773 (1980).
14. Siglen, P.O.: *Experimental Cell Research* 82, 391 (1973).
15. Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Pathol.* 28, 56 (1957).
16. Kafalas, V. and Stacey, N.H.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 101, 158 (1989).
17. Villarruel, M.C., Diaz Gomez, M.I. and Castro, J.A.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 33, 106 (1975).