

Benzo (a) pyrene 에 의해 유도된 간장해에 미치는 황련 수침액의 영향

윤 수 홍·하 현·서 민 지
효성여자대학교 약학대학 위생약학 교실

Effect of Coptis Rhizoma on Benzo (a) pyrene-Induced Hepatotoxicity

Soo-Hong Yoon, Hun Ha and Min-Ji Seo

Dept. of Hygienic Pharmacy, Hyosung Women's University, Hayang, 713-702, Korea

ABSTRACT

The present study was undertaken to find a protective effect of Coptis Rhizoma Extract on liver injury induced by benzo (a)pyrene in rats. This crude drug significantly suppressed the increase of several biochemical parameters such as transaminase, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase in serum and liver and total cholesterol. But there were little changes in elevated serum phospholipid level. The results suggested that Coptis Rhizoma prevent benzo (a)pyrene-induced hepatic injury.

서 론

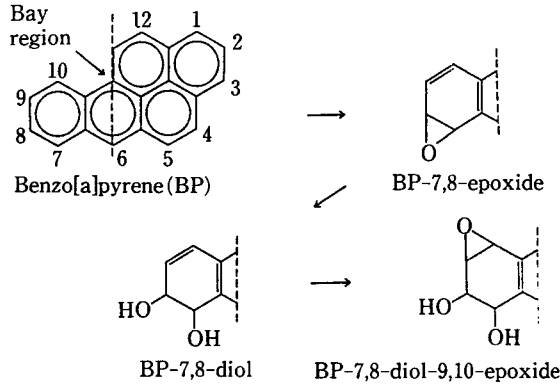
황련(Coptis Rhizoma)은 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하는 다년생 초본식물(Coptis japonica MAKINO)로서 그 뿌리줄기를 黃連 또는 黃蓮이라 하며, 한방에서 고미진위, 정장, 진해, 해독 등의 목적으로 빈번히 사용되는 생약이다¹⁾. 그 성분으로서는 berberine-type alkaloid라 불리우는 berberine, coptisine, palmatine 등이 있으며, 근년에 Yahara²⁾ 등은 황련으로부터 몇가지 phenol 성 물질을 분리하는데 성공하였으며, Namba³⁾ 등은 X-ray microanalyzer 를 이용하여, 새로운 berberine 성분 정량법을 개발하였

고, Otsuka⁴⁾ 등은 수정란법을 이용하여, 항염증 작용에 대해 탁월한 효과가 있다고 하며, Nagasawa⁵⁾ 등은 황련 수침액이 백서의 blood urea nitrogen 을 현저히 감소 시켰다고 한다.

Benzo(a)pyrene(이하 BP라 표시)는 polycyclic aromatic hydrocarbon에 속하는 mutagen 혹은 carcinogen 으로서 석탄, 석유, 담배등 유기물질의 불완전연소에 의해 생성되며 환경오염물질로 작용하여 인체에 노출될 기회를 증가시키고 있다. 그 독성기전은 BP의 최종 대사물인 diol epoxide 의 bay-region-carcinogenic activity 에 의해 diol epoxide가 DNA 와 반응하게되어 DNA 변성을 초래한다⁶⁾ (Scheme 1).

본 연구는 간장해에 대한 황련 수침액의 효과의

유무를 밝히고자, 병태 model 로서, 대표적 발암 및 돌연변이 유발물질인 BP에 의해 만들어진 간장 해 rat 를 사용하여 검토하였다.



Scheme 1. Metabolism of Benzo (a)pyrene. BP requires a multistep metabolic activation by the complex cytochrome P-450 enzyme system. The first reaction is an epoxidation. With benzo (a)pyrene, the product is the corresponding 7, 8-epoxide that, in turn, is subject to epoxide hydrolases to form stereoisomeric diols. These are converted further to the 9, 10-epoxide.

실험 재료 및 방법

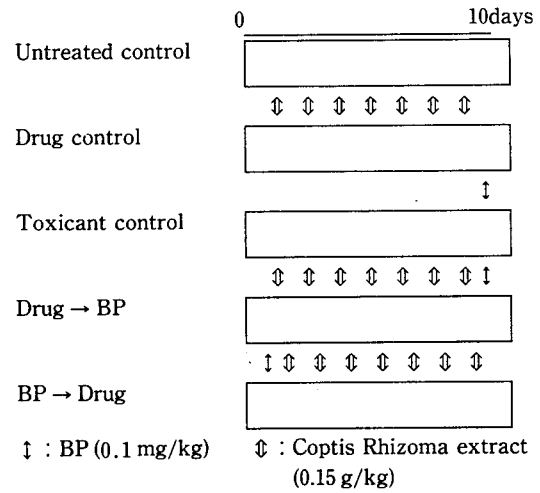
1. 실험동물

체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 웅성 rat 를 고형사료로 1주일간 예비사육시킨 후, 각군당 6 마리씩, 즉 무처리군, 황련 단독 투여군, BP 군, 황련 전투여군 그리고 황련 후투여군등 5군으로 나누어 행하였다. (Scheme 2)

2. 실험재료 및 투여방법

본 실험에 사용된 황련은 1992년 시중 한약재료 상에서 구입하였다. 세절한 황련은 그 중량 100 g 에 5배량의 증류수를 가한 다음, 85°C 수욕상에서 24시간 가온, 여과한후, 그 여액을 rotary evaporator로 감압 농축시켜, final volume 이 100 ml 되게 하여, 0.15 g/kg/day 을 1일 1회 일정시간에 1주일간 gastric intubation 하였으며, 최종 투여시 benzo(a)pyrene(BP, Sigma Chemical

Co., Mo. U.S.A.) 0.1 mg/kg 복강 주사하여, 간독성을 유발시켰으며, 간장해 치료 효과군은 BP 를 1회 주사 직후 부터 황련 추출액 일정량을 1일 1회 1주일간 투여하였다.



Scheme 2. Experimental design.

3. 효소 활성 측정과 지질 함량 측정

ALT (alanine aminotransferase) 와 AST (aspartate aminotransferase) 의 활성은 Reitman-Frankel⁷⁾ 의 법에 의해 측정하여 Karmen⁸⁾ 단위로 표시하였다.

LDH (lactate dehydrogenase) 의 활성은 Berga-Broida 법, ALP (alkaline phosphatase) 활성은 Kind-King 법에 준하여 측정하여 King-Armstrong⁹⁾ 단위로 표시하였다. 혈청중의 total cholesterol, phospholipid는 효소법에 의해 비색정량하였다.

4. 유의성 검정

실험결과는 평균 표준편차로 나타내었고, 유의성은 PCS (pharmaceutical calculation system) 을 이용한 t-test 에 준하여 검정하였다.

결과 및 고찰

1. Benzo (a)pyrene 간장해에 대한 황련의 혈청 효소 활성에 미치는 효과

BP를 투여하여 간손상을 유발시켰을 때 혈청 중 효소의 활성 변화에 미치는 황련 수침액의 효과는 Table 1 과 같다. 황련 수침액만 투여했을 때, 여러 효소의 활성에는 큰 변화가 없었다. 그러나 BP 투여로 AST, ALT 활성이 무처리군에 비해 거의 3 배, 2 배 가까이 증가 하였는데, 이는 BP 처리로 간 손상이 확실하게 나타났음을 보여준다. 이런 상태에 황련 수침액의 전처리로 각각 54 unit/ml, 42 unit/ml, 후처리로 약 40 unit/ml, 30 unit/ml 로 감소하였다. 이는 BP로 인한 간손상이 황련 수침액의 투여로 상당히 개선되었음을 시사한다. 혈청 LDH 역시 BP 투여로 약 3 배 가까이 활성이 증가 되었으나, 황련 수침액 투여로 유의성있게 회복되었다.

BP 투여로 혈청 ALP 는 60 % 정도 활성이 증가 했으나, 전처리로 약 17 % 또한 후처리로 거의 무처리군 수준으로 회복시켰다. 간기능 장애중 담도계 장애의 지표인 ALP 활성의 증가는 BP 투여로 인해 간세포에서 bilirubin 수송장애와 배설장애가 시사된다. 일반적으로 AST, ALT 는 간실질 세포의 변성이나, 괴사를 나타내는 지표로서 간기능 장애시 혈중으로 다량 누출되어 그 활성이 증가된다¹⁰⁾. BP 투여로 상승한 활성이 황련 수침액에 의해 감소한 것은 이들 transaminase 활성이 억제되었거

나 세포투과성 변화를 황련 추출물이 안정화시킨 것으로 사료된다.

2. Benzo (a) pyrene 간장해에 대한 황련의 지질 함량의 변동

BP 의 투여는 혈청 효소 뿐만 아니라, 지질 성분에도 변화를 일으켰다(Table. 2). 즉 total cholesterol 함량의 경우 BP 처리로 증가한 것이 황련 수침액 투여로 유의성 있게 감소하였다. BP 투여에 의해 혈청내 cholesterol 함량이 증가하는 것은 고 cholesterol 혈증이 생길 위험성이 크며, 이런 상황을 황련 수침액이 개선하리라 사료된다. Phospholipid에서는 BP 투여로 phospholipid 함량은 증가하였지만 황련 투여로 별다른 변화가 관찰되지 않았다.

3. Benzo (a) pyrene 간장해에 대한 황련의 간조직 효소 활성에 미치는 효과

BP 로 인한 간손상에서 조직중의 효소활성 변화에 대한 황련의 효과는 Table. 3 에 나타나 있다. 황련 수침액 단독 투여는 혈청에서와 마찬가지로 효소 활성에 변화를 주지 못했다. BP투여로 transaminase와 LDH 의 경우 거의 3 배 가까운 활성 상승이 관찰되었고, ALP 의 활성도 상당히 증가시켰다. Transaminase 의 BP 투여로 증가된 활성이 수침액에 의해서 유의성있게 감소하였으며, 특히 후처리 했을 때 현저하였다. LDH 치는 전처리, 후처리 공히 비슷한 수준으로 회복되었다. ALP치는 후처리가 유의성있게 개선되었다.

Table 1. Effect of Coptis Rhizoma on serum AST, ALT, LDH, and ALP level of benzo (a) pyrene-treated rats

Treatments	AST	ALT	LDH (X10) ²	ALP
Untreated control	23.05±3.11	23.01±1.51	25.99±2.00	26.21±2.95
Drug control	26.61±5.33*	27.36±9.51*	29.73±3.10*	26.58±9.43*
Toxicant control	79.56±8.16	59.21±5.20*	72.54±9.4	41.50±5.59*
Drug → BP	54.02±12.34*	42.25±3.67*	39.11±2.20	34.09±5.94*
BP → Drug	38.99±2.56*	29.97±4.81*	35.87±3.63*	25.34±3.65*

* Each values represents mean S.D. (n=6)

* Within the same horizontal row with subscript letters represent significant difference (p<0.05)

Table 2. Effect of Coptis Rhizoma on serum total cholesterol and phospholipid of benzo (a) pyrene treated rats.

Treatments	No. of Animals	Total cholesterol (mg/dl)	Phospholipid (mg/dl)
Untreated control	6	52.03±7.93	110.48±13.54
Drug control	6	52.08±6.69*	119.40±5.08*
Toxicant control	6	80.33±7.06*	126.98±17.84*
Drug → BP	6	71.71±4.45*	121.87±15.44*
BP → Drug	6	70.77±5.39*	126.76±10.19*

* Each value represents the mean S.D. (n=6)

* Within the same horizontal row with subscript letters represent significant difference (p<0.05)

Table 3. Effect of Coptis Rhizoma on hepatic enzyme activities in benzo (a) pyrene-treated rats.

Treatments	AST (×10 ³)	ALT (×10 ³)	LDH (×10) ²	ALP
Untreated control	16.71±1.45	16.33±3.84	17.95±0.18	7.45±0.82
Drug control	21.14±1.24*	18.39±1.95	20.06±1.05	7.46±0.15
Toxicant control	48.31±3.97	41.81±3.67	53.34±1.12*	17.05±1.78*
Drug → BP	37.13±2.68*	28.61±2.87*	30.04±2.54*	11.37±2.25*
BP → Drug	20.57±2.19*	23.64±1.17*	29.83±3.51*	9.24±3.63

* Each values represents mean S.D. (n=6)

* Within the same horizontal row with subscript letters represent significant sifference (p<0.05)

결 론

천연물 중 간보호작용이 기대되는 약물을 찾아 임상적인 효력을 밝히고자, 실험적 발암물질인 동시에 돌연변이 유발 물질인 BP로 유도한 간독성 발현에 미치는 황련 수침액의 예방 및 치료 효과에 대해 관찰한 바, 황련 수침액의 투여는 BP에 의해 현저히 증가된 혈청 및 간의 AST, ALT, LDH, ALP 활성을 유의성있게 감소시켰고, BP 투여로 증가한 혈청 총 cholesterol과 phospholipid 함량 변동에 있어, phospholipid 경우 현저하지 못했다. 이러한 실험 결과 황련 수침액의 투여는 BP 투여로 인한 간 실질세포의 손상과 담즙 분비 이상의 간독성에 대해 우수한 보호효과를 가지는 것으로 사료되며, 이 기전과 성분 등에 관해 심도있는 연구가 진행 중이다.

감사의 글

본 연구는 1991년도 한국과학재단 목적기초연구 과제 연구비지원에 의한 연구결과이며 지면을 통해 감사드립니다.

REFERENCES

1. 齊木保久 : 藥用植物學, 廣川書店, 166 (1976)
2. Yahara, S., Satoshiro, M., Nishioka, I., Nasawa, T., and Oura, H., Isolation and characterization of phenolic compounds from Coptis Rhizoma, *Chem. Pharm. Bull.* 33(2) 527-531 (1985)
3. Namba, T., Mikage, M., and Ushiyama, T., Fundamental studies on the evaluation of crude drugs. Electron microscopic analysis of crude drugs. Determination of berberine in coptis Rhizoma, *Yakugaku Zasshi*, 102(1) 56-62 (1982)

4. Otsuka H., Fujimura, H., Sawada, T., and Goto, M., Studies on anti-inflammatory agents. anti-inflammatory constituents from rhizome of *Coptis japonica* Makino, *Yakugaku Zasshi*, 101(10), 883(1981)
5. Nagasawa, T., Shibutani, S., and Oura, H., Effect of crude drugs on rat serum constituent after the administration. *Yakugaku Zasshi* 99(1) 71(1978)
6. Philips, D. H., 50 years of benzo(a)pyrene, *Nature*, 303(9) 468 (1983)
7. Reitma, S., and Frankel, S., A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 58(1957)
8. Karmen, A., A note on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum, *J. Clin. Invest.*, 34, 131 (1955)
9. Kind, P.R.N., and King, E.J. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolyzed phenol with amino antipyrine, *J. Clin. Pathol.*, 7, 32(1954)
10. Huntington, S., Introduction to the study of disease. 9th ed., Philadelphia, Lea &Febign, 446, (1984)