

排風藤이 CCl₄로 유발된 mouse의 肝損傷에 미치는 영향

- 朴哲秀* · 李元勳* · 金宣康* · 金鍾吳* · 朴宣東** -

ABSTRACT

Effects Of *Solanum lyratum* on The CCl₄-induced Liver Damage in mice.

Chul-Soo Park, Won-Hoon Lee, Seon-Kang Kim,
Jong-Dae Kim, Seon-Dong Park

This study was carried out to investigate the effects of *Solanum lyratum* Extract (SLE) on the recovery of liver in CCl₄-intoxicated mice.

In this study, ICR-Mice were divided into 3 experimental groups ; Normal group was fed basal diet and water, control group was injected CCl₄. (0.6ml/kg) and was fed basal diet for 2 weeks, sample group was injected CCl₄. (0.6ml/kg) and was fed the SLE 500mg/kg for 2 weeks.

In sample group, the level of serum AST, ALT, ALP activity decreased significantly compared with control group. This results suggest that SLE has appreciable therapeutic effect on CCl₄ induced hepatotoxicity.

In sample group, the level of LPO in liver homogenates decreased significantly compared with control group. In sample group, the level of GSH, catalase in liver homogenates increased significantly compared with control group. This results suggest that SLE has appreciable antioxidant effect on CCl₄ induced hepatotoxicity.

In conclusion the results suggest that SLE has appreciable therapeutic effect and antioxidant effect on CCl₄ induced hepatotoxicity.

Key words : *Solanum lyratum*, CCl₄, hepatotoxicity.

* 동국대학교 내과학교실

** 동국대학교 방제학교실

I. 서론

排風藤은 가지(茄子)科 가지屬植物 排風藤 *Solanum lyratum* THUNB [S. *dulcamara* L. var. *lyratum*(THUNB) SIEB et Zucc] 및 同屬植物 苦茄(S. *dulcamara* L.)의 全草로서 野生하거나 재배되는 多年生 덩굴성 半灌木으로¹⁾ 중국의 상하이 지역에서는 전통적으로 여러 가지 癌治療 等に 사용되어져 왔고²⁾ 민간에서는 解熱 鎮痛劑로 사용되어 왔으며³⁾ 유럽에서도 排風藤의 同屬植物인 千年不爛心(S. *dulcamara*)이 抗腫瘍 作用을 목적으로 민간에서 널리 쓰이고 있다⁴⁾.

우리나라에서는 중부, 남부지방에 주로 분포하는데 특히 제주도, 울릉도의 산지암석 사이에 분포하며¹⁾ 실험적 연구에서 간세포 보호 활성 기능과 抗酸化 效果를 나타내는 것으로 알려져 排風藤에 대한 관심이 늘어나고 있다⁵⁻⁷⁾.

간은 인체의 중요한 臟器 中の 하나로서 다양한 종류의 효소를 포함하고 있어 많은 대사기능을 수행하며 질병을 막아주는 기능이 있는데⁸⁻⁹⁾ 반면, 經口의으로 투입된 많은 화학물질이나 약물들의 독성 등에 의하여 손상을 입기 쉽고 그 손상의 기전 또한 다양하다¹⁰⁻¹¹⁾. 최근 보건연감¹²⁾에 따르면 1996년 한 해동안 肝疾患으로 인한 우리나라의 사망자수가 12,521명으로서 肝疾患에 대한 관심이 늘어나고 있다.

화학물질에 의한 간손상을 분류하는 데에는 여러 가지 방법이 있으나 주로 급성 간괴사와 지방축적, 담즙정체반응 세가지로 분류하며, CCl₄에 의한 급성 손상은 괴사와 지방축적을 같이 나타낸다¹³⁾. CCl₄는 간손상이나 肝中毒을 유발하는 물질로 오랫동안 보편적으로 실험에서 응용되어 왔다¹⁴⁻¹⁵⁾.

肝에서 발생하는 CCl₄에 의한 화학적 손상은 CCl₄가 간세포의 sER內에 존재하는 cytochrome P-450에 의해 독성 free radical

인 CCl₃·로 전환되어 이것이 세포상해를 일으키는데, CCl₃·은 수산화기처럼 脂質過酸化를 유발하는 강력한 물질이다¹⁶⁾.

이에 저자는 排風藤 單味劑의 복용이 CCl₄로 유발된 ICR系 흰쥐의 肝損傷에 미치는 영향을 알아보기 위해, 혈청내에서 AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase), ALP(alkaline phosphatase)의 활성도와 DPPH radical 소거효과, 간조직에서 지질과산화치인 LPO(lipid peroxide), 항산화작용을 하는 GSH(Glutathion)의 함량, catalase의 활성도를 측정한 결과 排風藤의 간손상에 대한 억제 효과와 항산화작용에 있어서 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용한 약재는 排風藤(*Solanum lyratum*)으로 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였다.

2) 동물

실험동물은 건강한 체중 30g 내외의 ICR계 수컷 mouse로 5일간 사육실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 20℃ 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, mouse용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

3) 시약

본 실험에 사용한 시약은 carbon tetrachloride, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), bovine serum albumine, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), sodium dodecyl

sulfate(SDS), thiobarbituric acid(TBA), sulfosalicylic acid, potassium phosphate, Malondialdehyde tetrabutylammonium salt 등은 SIGMA사에서 구입하였으며, Hydrogen peroxide 및 n-butanol, ethanol, methanol, acetic acid와 기타 시약은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였으며, AST(aspartate aminotransferase) 및 ALT(alanine aminotransferase) 측정용 kit, ALP(alkaline phosphatase) 측정용 kit는 아산제약에서 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

排風藤 300g에 3배량의 증류수를 가한 다음 3시간 동안 1회 중탕하여 여과한 후 농축하고 동결건조 한 후 排風藤 추출물 34.51g을 얻었다.

2) DPPH radical 소거효과 측정

排風藤 추출물의 free radical에 대한 소거효과를 알아보기 위해 Hatano등의 방법¹⁷⁾에 따라 DPPH radical 소거효과를 측정하였다. 排風藤 추출물을 증류수에 농도별로 녹인 각 혼합물 4mℓ과 1.5×10^{-4} M DPPH/MeOH 1mℓ을 혼합하여 잘 흔들어 주고 실온에서 30분 동안 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 동물의 처치

실험동물은 3개의 군(정상군, 대조군, 약물투여군)으로 나누었다. 정상군은 마우스용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였으며, 대조군은 7일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6mℓ을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 물을 2주간 제한 없이 공급하였으며 약물투여군은 7

일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6mℓ을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 排風藤 추출물을 kg당 500mg씩 2주간 음용시켰다. 모든 실험 동물은 검체채취전 18시간 동안 물만 공급하고 절식시킨 후 사용하였다.

4) 생체시료의 제조

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복하여 복부 대동맥에서 채혈하였으며 채혈한 혈액은 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 혈청을 분리하여 AST, ALT, ALP 측정 효소원으로 사용하였다. 생리 식염수로 관류시킨 간은 조직이 손상되지 않도록 주의하여 혈액이 충분히 제거될 때까지 생리 식염수에 잘 씻어내고 whatman 여과지로 식염수를 제거한 후 -70°C에 동결 보존하여 사용하였다. 효소 활성도 측정을 위해 전체 조직의 4배 용량의 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 병냉하에서 homogenizer로 4분간 균질화 하였다. 이 균질액을 110×g에서 15분간 원심 분리하여 상층액은 과산화지질(lipid peroxide) 및 Glutathion 함량을 측정하기 위한 시료로 사용하였고, 나머지 상층액은 600×g에서 15분간 원심분리 하여 핵과 세포잔해를 제거한 상층액을 취한 후 다시 12,000×g에서 30분 동안 원심분리 하여 미토콘드리아를 제거한 상층액을 Catalase의 활성도를 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는 한 0~4°C에서 실시하였다(Fig. 1).

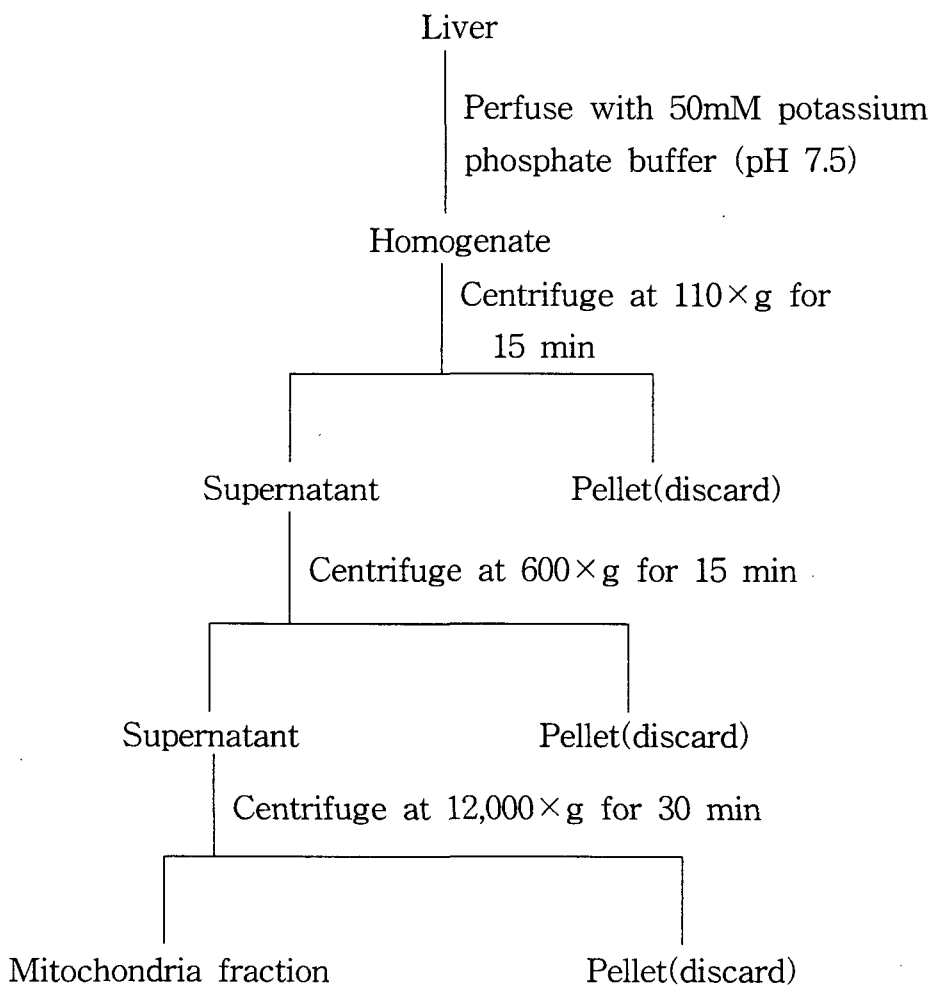


Fig. 1. Preparation of Hepatic Mitochondrial Fractions for Enzyme Studies.

5) 효소활성의 측정

(1) 혈청중 AST 및 ALT 활성 측정

혈청중 AST 및 ALT 활성 측정은 Reitman-Frankel의 방법¹⁸⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. AST, ALT 기질액 1.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2ml을 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 AST는 60분, ALT는 30분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0ml을 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4N NaOH 용액 10ml을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505nm에서 증류수를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 AST, ALT의 활성도는 작성한 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1ml당 karmen unit로 나타내었다.

(2) 혈청중 ALP 활성 측정

혈청중 ALP 활성 측정은 Petkova등의 방법¹⁹⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 실시하였다. 기질액 2.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 후 여기에 혈청 0.05ml을 가하여 잘 혼합하여 37°C에서 정확히 15분간 반응 시켰다. 정색시액 2.0ml을 넣고 충분히 혼합한 후 실온에서 10분 이상 방치시키고 60분 이내에 500nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 ALP의 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 King-Amstrong unit로 나타내었다.

(3) LPO (Lipid peroxide)함량측정

조직내 LPO함량 측정은 Ohkawa등의 방법²⁰⁾에 따랐다. 조직 마쇄 균질액을 1,000×g에서 원심분리한 후 상층액을 취해 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95°C에서 1시간 동안 반응시키

고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15:1) 혼액으로 이행시켜 파장 532nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 생성된 시료의 MDA농도는 free MDA로 표준선을 구하여 계산하였으며 MDA함량은 조직 mg당 nmoles로 나타내었다.

(4) GSH (Glutathion)함량측정

조직내 GSH 함량측정은 Ellman등의 방법²¹⁾에 따랐다. 조직 균질액을 1,000×g에서 원심분리한 후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 1mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 412nm에서 흡광도를 측정하였으며 GSH 함량은 protein 1mg 당 nmoles로 나타내었다.

(5) Catalase 활성측정

조직내 Catalase 활성도는 Aebi의 방법²²⁾에 따라 측정하였다. 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10mM H₂O₂ 용액을 가하여 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 10mM H₂O₂ 용액 대신에 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)을 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 1μM의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(6) 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry등의 방법²³⁻²⁴⁾에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질을 정량 하였다.

6) 통계처리

실험결과는 평균과 표준 편차로 표현하고 유의성 검증은 Sigma Plot(Window용 version 3.0)을 이용하여 unpaired *t*-test를 실시하였다.

를 관찰한 결과 排風藤의 중량 2000, 1000, 800, 600, 400, 300, 200, 100, 50 μ g 각각 40.31, 37.91, 34.20, 35.51, 32.24, 29.85, 24.62, 19.83, 16.12%의 농도 의존적인 radical 소거 효과를 나타내었다(Table. I, Fig. 2).

III. 실험결과

1. DPPH radical 소거효과

排風藤의 DPPH radical에 대한 소거효과

Mass unit (μ g)	Activity* (%)	
	BHT	SL
2000	98.75	40.31
1000	95.45	37.91
800	88.98	34.20
600	85.14	35.51
400	79.31	32.24
300	70.44	29.85
200	63.15	24.62
100	58.64	19.83
50	53.41	16.12

Table I. Scavenging effect of *Solanum lyratum* on DPPH radical

The effects of Natural Products on DPPH radical were determined according to the method of Hatano*. Natural Products in 4ml of distilled water were added to a methanolic solution of DPPH(1.5×10^{-4} M, 1ml). The mixture was shaken and left to stand at room temperature for 30min ; the absorbance of the resulting solution was measured spectrophotometrically at 517nm. (Control O.D. \Rightarrow 4ml of distilled water + 1ml of 1.5×10^{-4} M DPPH/MeOH)

*Radical Scavenging Activity(%) = [(control O.D.-Experimental O.D.)/Control O.D.] \times 100.

Each values are the mean of triplicate experiments.

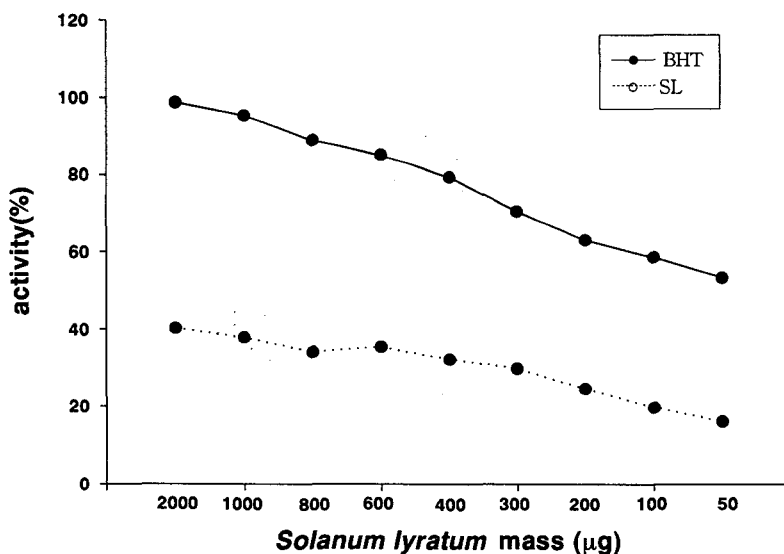


Fig. 2. Effect of the *Solanum lyratum* extract on DPPH radical scavenging activity.

2. 혈청중 AST 및 ALT 활성 변화

혈청중 AST 활성은 정상군이 39.83 ± 8.14 karmen unit/ml of serum 인데 비하여 각각의 실험동물을 CCl_4 로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 137.72 ± 18.76 karmen unit/ml of serum 로 약 4배 이상 증가하였으며, 약물투여군은 58.12 ± 7.34 karmen unit/ml of serum 로 활성이 감소하였다(Fig. 3).

혈청중 ALT 활성은 정상군이 13.34 ± 2.69 karmen unit/ml of serum 인데 비하여 독성유발 일주일 경과 후에는 대조군은 83.78 ± 8.82 karmen unit/ml of serum 로 약 4배 이상 증가하였으며 약물투여군은 39.77 ± 6.32 karmen unit/ml of serum 으로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 감소하였다(Fig. 4).

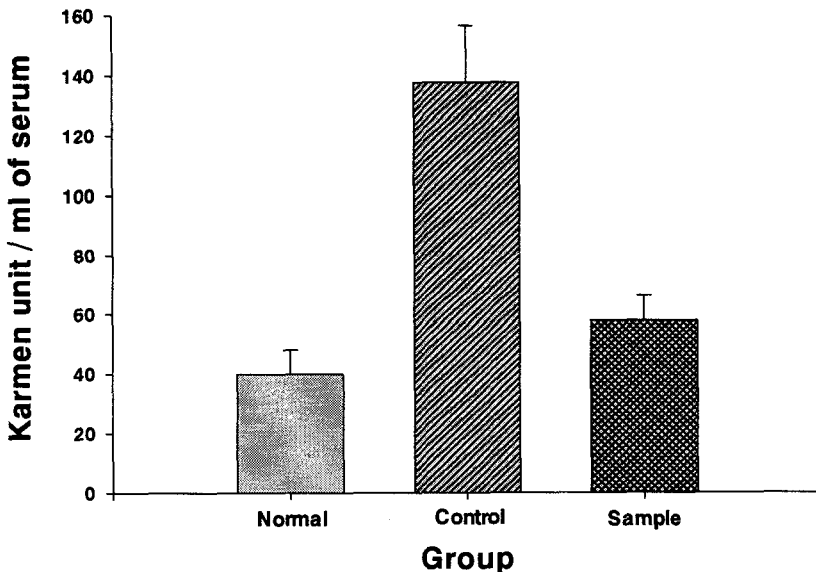


Fig. 3. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the activity of serum AST in carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and fed the *Solanum lyratum* extract (500mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

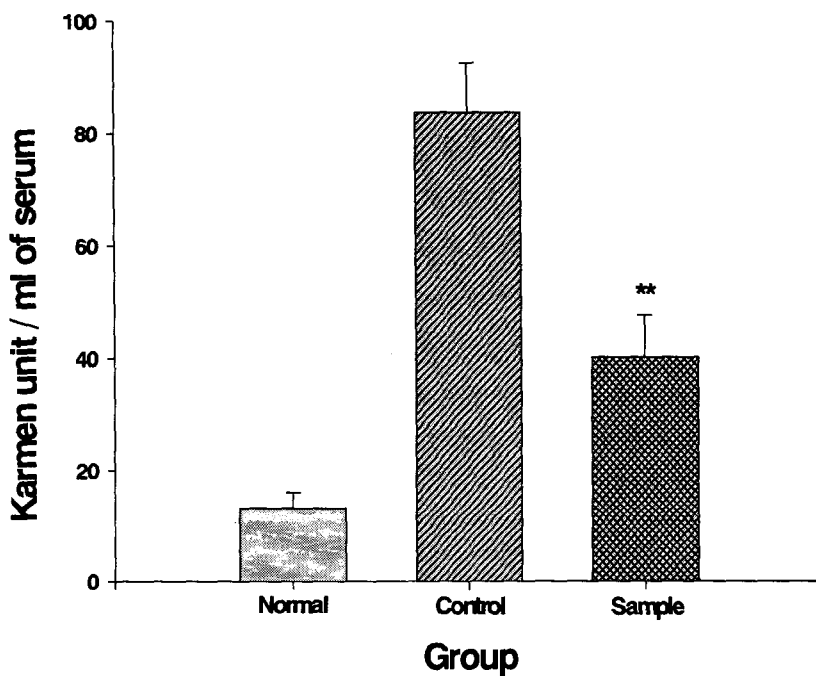


Fig. 4. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the activity of serum ALT in carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and fed the *Solanum lyratum* extract (500mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

3. 혈청중 ALP 활성변화

각각의 실험 동물을 CCl_4 로 간독성을 유발 하였을 때 혈청중 ALP 활성은 정상군은 30.64 ± 5.69 King-Amstrong unit/dl of serum 인데 비하여 대조군은 88.85 ± 10.27 King-Amstrong unit/dl of serum 로 약 2배

이상 증가하였으며, 약물투여군은 54.89 ± 5.02 King-Amstrong unit/dl of serum 로 대조군 에 비해 감소하였다(Fig. 5).

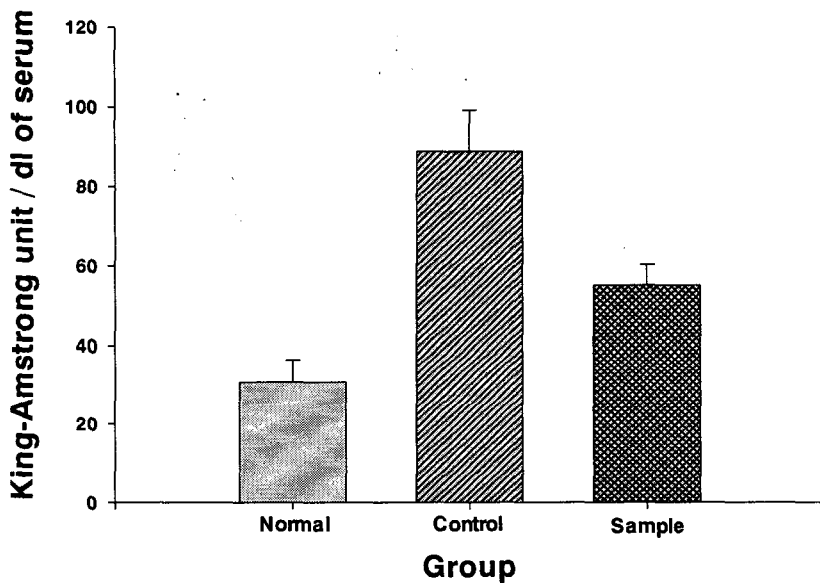


Fig. 5. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the activity of serum ALP in carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and fed the *Solanum lyratum* extract (500mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

4. Lipid peroxide (LPO) 함량변화

간에서의 정상군의 과산화지질 함량은 8.31 ± 2.12 MDA nmole / mg of protein 인데 비해 각각의 실험 동물을 CCl_4 로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 31.70 ± 22.94 MDA

nmole / mg of protein 으로 약 4배 정도 증가 하였으나 약물투여군은 23.01 ± 4.71 MDA nmole / mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Fig. 6).

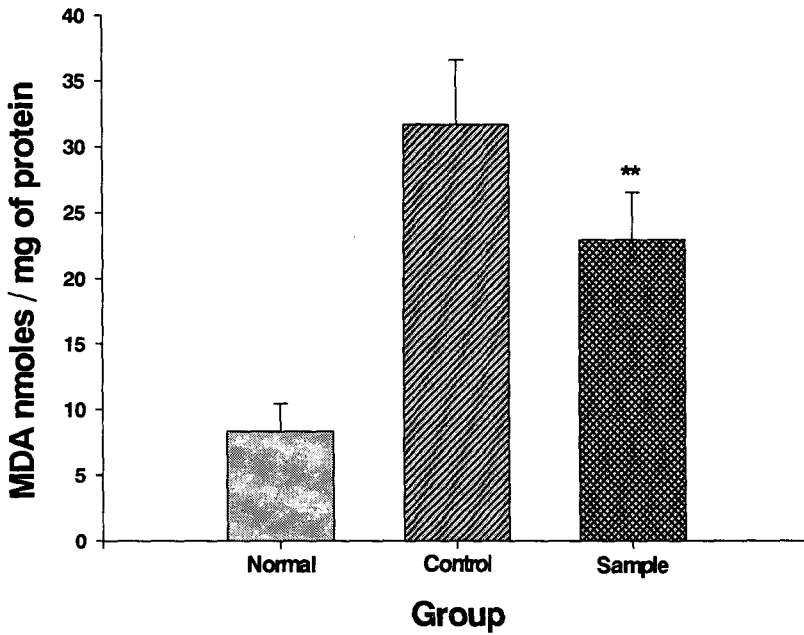


Fig. 6. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the level of hepatic lipid peroxide in carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and fed the *Solanum lyratum* extract (500mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

** : $P < 0.05$ as compared with control group.

5. Glutathion (GSH)함량변화

간에서의 정상군의 GSH 함량은 4.65 ± 0.77 nmole / mg of protein 인데 비해 각각의 실험 동물을 CCl_4 로 간독성을 유발 하였을 때 대조군은 1.98 ± 0.79 nmole / mg of

protein 로 감소하였으나 약물투여군은 3.32 ± 0.72 nmole / mg of protein 로 대조군에 비해 유의성($p < 0.01$)있게 증가 하였다(Fig. 7).

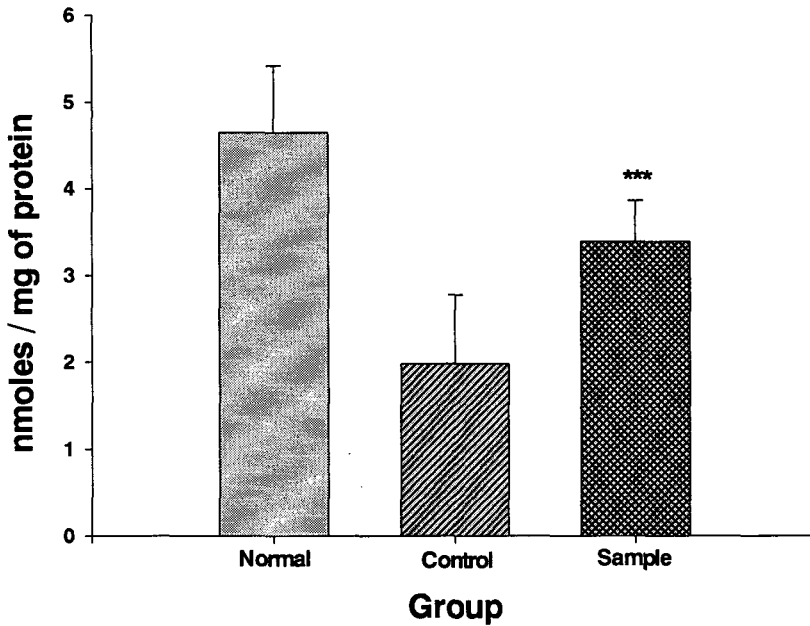


Fig. 7. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the level of hepatic in glutathion carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , $0.6\text{ml}/\text{kg}$) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , $0.6\text{ml}/\text{kg}$) and fed the *Solanum lyratum* extract ($500\text{mg}/\text{kg}$) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

*** : $P < 0.01$ as compared with control group.

6. Catalase 활성변화

간에서의 정상군의 catalase 함량은 13.83 ± 2.29 units / mg of protein 인 데 비해 각각의 실험 동물을 CCl_4 로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 8.00 ± 0.88

unit / mg of protein 으로 감소하였으나 약물투여군은 11.12 ± 1.78 units / mg of protein 대조군에 비해 유의성 ($p < 0.05$) 있게 증가하였다(Fig. 8).

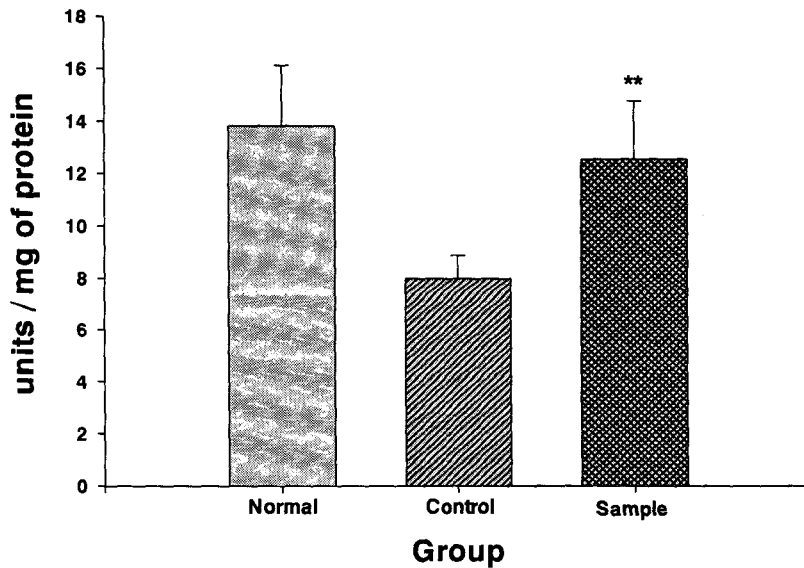


Fig. 8. Effect of the *Solanum lyratum* extract on the level of hepatic in c
ttalase carbon tetrachloride-treated mouse.

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , 0.6ml/kg) and fed the *Solanum lyratum* extract (500mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

** : $P < 0.05$ as compared with control group.

IV. 고찰

排風藤은 가지(茄子)科 가지屬植物 排風藤 *Solanum lyratum* THUNB [S. *dulcamara* L. var. *lyratum*(THUNB) SIEB et Zucc] 및 同屬植物 苦茄(S. *dulcamara* L.)의 全草로서, 別名으로 百草, 白毛藤, 毛風藤, 白英, 白幕, 穀菜, 鬼目, 毛秀才, 毛千里光, 葫蘆草, 金錢綠毛龜이라고도 하는데¹⁻²⁾ 산야 혹은 灌木을 따라 야생하며 중국 전지역에 걸쳐 분포하는데 황하강 이남 지역에 특히 더 많이 나고²⁵⁾ <神農本草經>에는 上品에 속하는 약물로써 寒熱, 八疸, 消渴을 치료하고 補中益氣시키는 효능이 있다고 하였고²⁶⁾ 중국 근대의 치료 예에서도 關節炎, 肝硬化, 黃疸性 肝炎, 白帶下等 주로 清利濕熱하는 효능과 肝癌, 肺癌, 胃癌, 聲帶癌, 食道癌等 抗癌治療 및 疥瘡, 疔瘡腫毒等 清熱解毒에 많은 효과를 발휘한다고 되어 있다. 그리고 기타 치료 예로써 腰痛, 驚風, 咳嗽 및 風火赤眼 등이 있으며 清利濕熱하는 효능에 대해서는 근대의 中醫인 張壽頤와 越學敏 等도 언급한 바가 있다^{25,27,28)}.

최근 중국과 일본 등지에서는 排風藤의 抗癌治療에 대해서 그 효능을 실험하였는데 1982年 Wang 등은 排風藤의 건조한 地上部의 湯煎液으로 mouse의 복강내에 주입한 실험에서 排風藤이 Ehrlich ascites carcinoma(EAC)에 대한 抗腫瘍 효과를 나타내었다고 보고하였고²⁹⁾, 浙江省의 中醫藥研究所에서 子宮頸癌 치료에 사용한 결과도 또한 양호하였으며 四川省의 成都地區에서 複方煎劑를 써서 胃癌과 食道癌을 치료했을 때에도 肝臟保護, 消炎, 鎮痛의 효과가 인정되었으며 湖南省의 각지에서 일찍이 胃癌, 食道癌의 치료에 썼을 때에도 모두 양호한 효과를 얻었다²⁾. 일본에서는 1984年 Murakami 등이 분리한 2종의 steroidal alkaloid glycosides가 human cervical cell line (JTC-26)의 성장을 억제하

였다고 보고하였고³⁰⁾, 1989, 1990년에 Sato는 human normal embryonic cell(HE-1)lines에 대한 癌細胞 增殖抑制 효과가 있다고 보고하였다³¹⁻³²⁾.

排風藤의 약리작용에 대한 연구는 排風藤에 함유되어 있는 β -solamarine과 soladulcidine이 각각 肉腫抑制作用과 抗真菌作用을 한다는 것이 밝혀졌다^{1,2,25,27)}.

최근에 국내에서도 排風藤에 대한 연구가 있었는데 崔⁷⁾는 中毒된 肝臟에 대하여 해독 작용과 손상된 肝機能에 대한 병변조직의 개선효과가 있다고 하였고 심⁵⁾은 排風藤에서 抗酸化 효과를 나타내는 rutin이라는 성분을 분리동정해냈으며 姜⁶⁾은 排風藤에 scopoletin이라는 성분이 있어 肝細胞 保護 活性作用을 한다고 하였다.

일반적으로 抗酸化劑는 DPPH radical에 전자 혹은 수소원자를 공여함으로써 불안정한 형태의 DPPH radical을 보다 안정한 형태로 변환시키는 것으로 알려져 있는데³³⁾, 排風藤은 최고 40%정도의 free radical 소거능을 보임에 따라 排風藤의 抗酸化力은 本藥物內에 함유되어 있는 水溶性 성분이 수소 혹은 전자를 자유기에 공여함으로써 활성이 강한 free radical을 보다 안정된 형태의 화합물로 변환시키기 때문임을 알 수 있었다. 기존의 항산화제 중, 천연 항산화제인 tocopherol 등은 생체에 비교적 무해하지만 BHT와 같은 인공 합성 항산화제에 비해 항산화력이 부족하고, 또한 인공 합성 항산화제는 항산화력은 뛰어난 반면 변이원성, 세포독성과 같은 생체에 유해한 영향을 미치므로 사용이 제한되거나 금지되고 있다³³⁾.

물질을 구성하고 있는 원자나 분자가 외부로부터 여분의 전자를 한 개 받거나 다른 물질에 빼앗겨서 쌍으로 존재하지 않는 전자가 한 개 이상 있을 때 이를 free radical이라 한다. free radical 손상은 화학적 손상, 염증, 미생물의 살균 작용, 방사선 손상, 산소 및 기타 가스독성, 노화, 재관류 손상 등이 있으

며 화학적 손상의 대표적 예가 CCl₄ 중독이 있다³⁴⁾.

간에서 발생하는 CCl₄에 의한 화학적 손상은 CCl₄ 자체에 있는 것이 아니고 간세포의 무과립 내형질망(sER)내에 풍부히 존재하면서 脂溶性 藥劑나 기타 화합물의 대사에 관여하는 cytochrome P-450에 의해 매우 반응성이 높은 독성 free radical인 CCl₃·로 전환되어 이것이 세포상해를 일으킨다. CCl₃·은 수산화기처럼 脂質過酸化를 유발하는 강력한 물질이다. CCl₄를 투여하면 간의 가까운 내형질망에서 빠른 속도로 진행되기 때문에 간세포 손상은 매우 빠르며 심하게 나타난다³⁴⁾.

간손상을 측정하는 일반적인 검사법으로 AST(aspartate aminotransferase), ALT(alanine aminotransferase)를 들 수 있는데, AST, ALT는 肝炎에서 활성증가가 나타나고 AST와 ALT의 증가 대도에 따른 차이로 간질환의 진단이 가능하고 혈청 ALT는 肝障礙의 더 예민한 검사라 할 수 있다³⁵⁾.

본 실험에서 혈청중 AST 활성은 CCl₄로 간독성을 유발한 일주일 경과 후에 대조군이 정상군에 비하여 약 4배 이상 증가하였으나 배풍등 약물투여군은 대조군에 비해 활성이 감소하였고, 혈청중 ALT 활성은 CCl₄로 간독성을 유발한 일주일 경과 후에 대조군이 정상군에 비하여 약 4배 이상 증가하였으나 배풍등 약물투여군은 대조군에 비해 활성이 유의성(p < 0.05)있게 감소하였다.

ALP는 유기인산 ester를 가수분해하여 무기인산을 유리시키는 효소로서 주로 형질막, 골지복합체 및 핵에 소량존재하고 여러 효소중 처음으로 肝臟疾患診斷에 응용된 효소로서 세포의 증식, 분화, 흡수기능 및 단백질과 핵산 대사에 관여한다³⁶⁾. ALP(alkaline phosphatase)는 간담도계 질환, 골질환 등에서 증가하여 임상적 의의는 크며³⁵⁾ 폐색성 황달에서 가장 현저하게 상승하고 간암, 간농양, 肝자르코이도시스의 경우에도 상승하나 간세포장애로는 약간 증가한다¹⁰⁾.

본 실험에서 혈청중 ALP 활성은 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 정상군에 비하여 대조군이 약 2배 이상 증가하였으며, 배풍등 약물투여군은 대조군에 비해 감소하였다.

LPO(lipid peroxide)는 自動酸化反應에 의한 다가불포화 지방산에 O₂가 부가된 생성물의 총칭으로 당뇨병, 간질환에서 고농도를 보이며 동맥경화증, 老化的의 관계가 검토중인 데 간질환에서는 급성 간염, 활동성 만성 간염, 지방간, 비대상기의 간경변 등, 특히 악화에 있는 경우에 혈청 LPO수치가 증가하며 특히 전격성 간염에서는 현저하게 증가하여 급성 간염의 예후에 대한 지표가 될 가능성을 시사하고 있다³⁵⁾.

본 실험에서는 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 LPO(lipid peroxide)함량이 대조군은 정상군에 비해 약 4배정도 증가하였으나 排風藤 약물투여군은 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.

GSH(Glutathione)은 포유동물의 세포 내에서 가장 풍부한 비단백질인 thiol을 지니며 트리펩타이드를 포함하고 있는 시스테인이다. GSH는 GSH transferases와 GSH peroxidase를 위한 기질로서 알려졌으며, 異物質性 화합물의 탈독성을 위한 반응을 촉진하며 역시 반응산소들이나 free radical의 항산화제를 위한 반응을 촉매한다. 세포 내 환원제로서 촉매라든가 물질대사를 포함해서 세포 내 수송이나 저장, 세포의 산화, 환원의 균형조절, DNA 합성, 면역기능 및 세포 증식에서 매우 중요하다³⁷⁾. GSH는 모든 조직에서 분포하며 glutathione peroxidase의 작용을 받아 과산화수소를 무독한 물로 전환시키는 대신 자신은 산화형이 된다. 또한 간에서는 glutathione S-transferase의 작용을 받아 외부로부터 온 화학물질과 결합하여 화학물질을 무독화시키고 최종적으로는 mercapturic acid로 배출한다³⁸⁾.

본 실험에서는 GSH 함량이 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 정상군에 비

하여 감소하였으나, 배풍등 약물투여군은 대조군에 비해 유의성(p < 0.01)있게 증가하였다.

Catalase는 동식물 조직 중에 널리 분포하고 있으며 인체에는 적혈구, 간, 신장 등의 세포내 peroxisome이나 mitochondria같은 소과립 중에 특히 풍부하게 존재하는데, free radical에 의한 세포 독성시 초기에 중요한 항산화 효소로 반응하여 hydrogen peroxide를 분해함으로써 hydrogen peroxide 증가에 따른 조직 손상을 방지하는 효과가 있으며 지방간, 급성 alcohol성 간염, 급성 황색위축, 독물성 간염 등의 간질환이나 급성 췌장염, 용혈성 질환에서 혈청 catalase가 증가한다(35,39).

본 실험에서 Catalase함량은 CCl₄로 간독성을 유발하였을때는 대조군이 정상군에 비해 감소하였으나, 배풍등 약물투여군은 대조군에 비해 유의성(p < 0.05)있게 증가하였다.

이상의 결과에서 排風藤은 CCl₄로 肝毒性이 유발된 mouse의 혈청내에서 AST, ALT, ALP 수치의 유의성 있는 감소를 보였고, 간조직내에서 LPO 수치를 유의성 있게 낮추었으며, 간에서의 GSH 및 catalase의 함량이 높게 측정되므로, 간손상에 대한 유의성 있는 효과 및 항산화 효과가 있을 것으로 사료된다. 그러나, 배풍등에 대한 좀 더 구체적인 성분 분석 및 다른 한약재와의 배합에 대한 연구는 더욱 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

배풍등의 항산화 작용을 통하여 간조직내에서 독성완화 및 방어기능에 대한 효능을 검증하기 위해 배풍등의 DPPH radical 소거 효과 측정, 혈청 및 간조직 中에서 AST, ALT, ALP 및 lipid peroxide(LPO), glutathion(GSH) 함량, catalase의 활성을 관찰한바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 배풍등 추출물은 지질과산화 반응에 주요 원인이 되는 free radical에 대한 직접적인 소거능을 나타내었다.
2. 혈청내 AST, ALT, ALP는 실험군이 대조군에 비해 활성이 감소함을 알 수 있었다.
3. 간조직내에서 LPO 함량은 실험군이 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.
4. 간조직내에서 GSH 함량 및 Catalase 활성은 실험군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과로부터 배풍등의 간에서 항산화 작용 및 독성완화 작용은 생체기능에 유용할 것으로 생각되어 진다.

< 참 고 문 헌 >

1. 鄭普燮 外 : 圖解 鄉藥(生藥)大事典(식물편), 서울, 永林社, pp.832-834, 1990.
2. 洪性範 : 臨床抗癌中草藥, 서울, 成輔社, 서울, pp.113-114, 1990.
3. 李時珍 : 本草綱目, 서울, 高文社, p.766, 1975.
4. Yahara, S, Morooka, M, Ikeda, M, Yamasaki, M, Nohara, T. : Two new steroidal glucuronides from Solanum lyratum, Planta Med II, 6, pp. 496-498, 1986.
5. 심경희 : 排風藤의 化學成分 및 抗酸化 效果에 관한 研究, 부산대학교 대학원, 1994.
6. 姜素英 : 배풍등의 간세포 보호 활성 물질, 서울대학교 대학원, 1997.
7. 崔喆雄 : 백모등 엑스의 제제화에 관한 연구(I) - 사염화 탄소에 의한 환취의 간장 기능 장애와 백모등 엑스의 투여효과 -, 전주우석대학교 대학원, 1990.

8. 金完熙 외 : 臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, p.139, 1990.
9. 고건일 외 : 인체생리학, 서울, 심구당, pp.525-526, 1993.
10. 全國韓醫科大學 肝系內科學教授 共著 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫學研究所, p198, p.214, 1992.
11. 文濬典 외 : 東醫病理學, 서울, 高文社, p.269, 1990.
12. 유태우 : 보건연감, 보건신문사, pp.74-75, 1998.
13. 허인회 : 독성학, 서울, 신일상사, p.222, 1993.
14. Rubin E., Hutter F. : Methods in the study of structural changes induced by experimental chronic hepatic injury, *Methods achiv Exp., Pathol* 2 : pp.224-230, 1981
15. Tsukamoto H., Towner S.J., Ciofalo L.M., French S.W.: Ethanol-induced liver fibrosis in rats fed high fat diet, *Hepatology* 6 : pp.814-822, 1986.
16. 대한병리학회 : 병리학 제2판, 서울, 고문사, pp.38-40, 43-45, 1995.
17. Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T. : Two new flavonoids and other constituents in licorice root : their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* (36):pp.2090-2097,1988.
18. Reitman, S. and Frankel, S. A colorimetic method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, *Am. J. Clin. Patrol.*, (28):pp.58-63, 1957.
19. Petkova, J., Popova, N. and Kemileva, Z. Changes of enzyme activity in some organs following thymectomy, *Agressologie.*, 14(5):pp.323-326, 1973.
20. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yaki, K., Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, *Anal Biochem.*, (95):pp.351-358, 1979.
21. Ellman, G. L., Tissue sulfhydryl group, *Arch. Biochem. Biophys.*, (82):pp.70-77,1959.
22. Aebi, H., In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U. eds.), New York, Academic Press, pp.674-678, 1974.
23. Lowry, O. H., Rosehrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. chem.*, 1951:193:265-75.
24. Daniel M. Bollag, Stuart J. Edelstrein, *Protein Method*, New York, Wiley-liss, pp.56-59, 1991.
25. 楊倉良 主編 : 毒藥本草, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.322-323, 1993.
26. 馬繼興 主編 : 神農本草經輯注, 北京, 人民衛生出版社, p 78, 1995.
27. 常敏毅 編著 : 抗癌本草, 長沙, 湖南科學技術出版社, pp.131-132, 1987.
28. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典 上卷, 臺北, 新文豐出版公司, pp.595-596.
29. Wang,K.R., Zhao,Y.L., Wang,D.S. and Zhao,ML. : Effeects of traditional Chinese herbs, toad tincture and adenosine 3',5', cAMP on Ehrlich ascites tumor cells in mice. *Chin. Med. J.*, 95(7), pp.527-532, 1982.
30. Murakami,K., Ezima,H., Takaish,Y., Takeda,Y., Fujita,T., Sato,A., Nagayama,T. and Nohara,T. : Studies on the constituents of *Solanum* plants.V. The

- constituents of *S. lyatum* Thunb. II. *Chem. Pharm. Bull.*, 33(1), pp.67-73, 1985.
31. Sato, A. : Studies on antitumor activities of crude drugs, I., The effects of aqueous extracts of some crude drugs in short term screening test (1). *Yakugaku Zasshi* 109, pp.407-423, 1989.
 32. Sato, A. : Studies on antitumor activities of crude drugs, II., The effects of aqueous extracts of some crude drugs in short term screening test (2). *Yakugaku Zasshi* 110, pp.144-154, 1990.
 33. 문진영 : 시호 약침제제의 자유기 소거능 및 지질과산화 억제효능에 관한 연구, 大韓針灸學會誌, 제15권 제2호, p.62,63, 1998.
 34. 대한병리학회 : 병리학 제2판, 서울, 고문사, pp.38-40, 43-45, 1995.
 35. 이귀녕 외 : 임상병리파일, 서울, 의학문화사, p.138-139, 229, 241, 279-280, 1996.
 36. 劉珍和 : 補心清肝湯이 飢餓白鼠 肝臟의 酵素活性에 미치는 影響에 關한 組織化學的 研究, 경희한의대논문집, Vol.3, pp.109-121, 1980.
 37. 金永坤 外 : 프리라디칼, 서울, 麗文閣, p.455, 564, 1997.
 38. 徐廷旭 : 老化促進 마우스에서 加齡에 따른 抗酸化能 및 生理的, 血液學的 變化, 忠南大學校大學院, 1994.
 39. 鄭智天 : 左歸飲과 右歸飲에 依한 活性 酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性 增加 效果에 對한 研究, 대한한의학회지, 17(1), pp.465-477, 1996.