

간섬유화 동물에서 윗나무 목부로부터 분리한 flavonoids의 독성 경감기전

박희준¹ · 이경태² · 박건영³ · 한갑이 · 정민화 · 최종원*

경성대학교 약학대학, ¹상지대학교 자원식물학과,
²경희대학교 약학대학, ³부산대학교 식품영양학과

Protective Mechanism of Flavonoids Isolated from *Rhus verniciflua* on the Biliary Liver Fibrosis in Rat

Hee-Juhn Park¹, Kyung-Tae Lee², Kun-Young Park³, Gab-Yi Han, Min-Hwa Jung and Jongwon Choi*

College of Pharmacy, Kyung-sung University, Busan 608-736 Korea

¹Division of Applied Plant Sciences, sangji University, Wonju 220-702 Korea

²College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-701 Korea

³Department of Food & Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735 Korea

Abstract

The pathogenesis of cholestatic liver injury as well as the modulation of hepatic fibrogenesis is causally associated with involvement of reactive oxygen species and free radical reactions. In this study, we investigated whether flavonoids (fustin, sulfuretin) which were isolated from *Rhus verniciflua* Stokes (RCS) have antioxidant and antihepatotoxicity effect under the biliary liver fibrosis condition. After surgery (control) and posttreated RCS methanol extract (250mg/kg), ethyl acetate extract (250mg/kg) and flavonoids were administered p.o. 10mg/kg/day in two weeks for control groups. The concentration of clinical parameters and product of hepatic lipid peroxidation and the hydroxyproline content were significantly increased in liver fibrosis developed rats. Among the clinical parameters of serum, value of ALT, AST, SDH, total bilirubin and γ -GT in posttreated RCS components-group showed significantly lower than in control-group. The content of hydroxyproline in posttreated RCS components-group showed lower than in control group and then the value of MDA in posttreated RCS components-group was also significantly reduced to 40~60% of that in control group. The hepatic xanthine oxidase and aldehyde oxidase activities were posttreated RCS components-group showed significantly lower than in control-group. The hepatic SOD and glutathione peroxidase activities were posttreated RCS components-group showed significantly higher than in control-group. Hence we concluded that active components of fustin and sulfuretin which were isolated from *R. verniciflua* Stokes were hepatoprotective effect in experimental liver fibrosis.

Key words – fibrosis, fustin, sulfuretin, *Rhus chinensis*, antihepatotoxicity

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 051-620-4883, Fax : 051-628-6540

E-mail : jwchoi@star.ks.ac.kr

서 론

윗나무(*Rhus verniciflua* Stokes)는 윗나무과(Anacardiaceae)에 속하는 낙엽 활엽 소교목으로 중앙아시아 고원지대 및 히말라야지방이 원산지로서 알려져 있으며, 현재 전 세계적으로 열대지방을 중심으로한 아열대지방과 온대지방에 널리 분포하고 있고 낙엽 또는 상록성으로 대부분이 교목 또는 관목성이나 일부는 덩굴성으로 자라는 것으로 알려져 있다 [2]. 윗나무의 수액을 윗이라하며 한방에서는 예로부터 건칠(乾漆)이 어혈(瘀血)을 없애고 혈액순환을 촉진시키며 구충, 복통, 위산과다, 진해, 폐결핵, 통경, 변비, 당뇨, 학질, 소염, 관절염, 방부, 건위, 여인경맥 불통 등에 효과가 있다고 알려져 있으며, 최근에는 항암효과에 대해서도 보고되고 있다 [21]. 또한 민간의학에서는 윗이 산삼과 비교할 만큼 효과가 있다고 하여 소화제, 간에서의 어혈, 심장에서는 청혈제로 심장병을 다스리고 폐에서는 결핵균을 없애며 그 외 신경통, 관절염, 피부병 등에도 훌륭한 약이 된다고 적혀있다. 이러한 윗나무의 성분으로는 urushiol과 flavonoids 계통 및 phenol 화합물 계통인 gallic acid등이 밝혀져 있다. 세포질에서 free radical-mediated 과정은 산화-환원균형의 변화로서 oxidative stress로 알려진 산화반응과 연관성이 있으며, 간질환 환자의 혈장에서 지질과산화물의 증가가 나타났으며, 이렇게 혈장에서 증가되는 지질과산화물은 hepatic tissue 뿐만 아니라 신장, 삼장, 기타 다른 조직에서도 매우 유해하게 작용할 수 있다는 보고가 많다 [9,27]. 최근에와서 담즙을체성 간질환에서 oxidative stress 노출에 의한 지질과산화물의 증가가 나타났고, 실험적 담즙을체 rat에서 oxidative stress 방어효과가 감소되었을 뿐만 아니라 간조직에서 분리한 mitochondria에서 지질과산화물이 검출된다고 보고하고 있다 [23,25,38]. 최근 지질과산화를 억제 또는 방지할 수 있는 기능, 즉 항산화 효과는 간보호 효과 및 항염증 작용이 있다고 보고되고 있고 [3,14], 항산화 물질은 반응성 산소종간생성물에 의한 공격에 대해서 간과 간세포 보호의 목적으로 사용되고 있으며, 간질환에서 응용가능성에 대해서 연구되고 있다. 지금까지 천연물에서 추출된 flavonoid, silymarin 또는 vitamin E와 같은 항산화제 (antioxidant agent)는 지질과산화와 간섬유화에 효과가 있는 물질로 보고되고 있고 [19,31] 윗나무에서의 flavonoid 성

분에 대한 항산화작용은 연구가 되고 있지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서는 윗나무의 flavonoid 성분인 sulfuretin과 fustin을 대상으로 새로운 약리작용을 구명할 목적으로 간섬유화를 유도한 흰쥐를 대상으로 간기능의 지표인 생화학적 수치 및 결합조직 단백질의 변화를 나타내는 collagen 양과 지질 과산화의 생성계에 미치는 영향을 관찰하였다.

재료 및 방법

동물 및 처치

실험동물로는 (주) 대한바이오링크(충북 음성)로 부터 분양 받은 웅성 Sprague - Dawley계 흰쥐 200±10g을 본대학 동물사에서 1주일동안 적응시킨후 일정한 조건(온도: 20±2°C, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 사육한 후 사용하며, 윗나무의 각분획 및 성분의 투여는 2주간 전처리하였다. 실험동물은 실험전 24시간 물만주고 절식 시켰다. 간섬유화 유도는 정상균을 제외한 균의 흰쥐에 Kountras 등의 방법 [10]에 따라 담도결찰을 하여 간섬유화를 유도하였다. 본 실험에 사용한 윗나무는 강원도 원주시 일대에서 채집한 윗나무의 목질부를 세절하여 상지대학교 응용식물과 학부에서 계통분리한 후 성분을 IR 및 NMR등의 방법으로 확인하여 fustin과 sulfuretin으로 명명하였다 [39]. 대조약물로서는 ursodeoxycholic acid(UCDA, 50mg/kg)를 사용하였다.

시료의 채취 및 효소원의 분리

실험동물을 CO₂ gas로 마취 시킨후 복부정중선을 따라 절개하고 복부대동맥에서 혈액을 채취하였다. 이 혈액을 3000rpm에서 10분간 원심분리하여 생화학적검사에 사용하였다. 간조직은 생리식염수로 관류하여 혈액을 제거한 간을 적출하여 여지로 혈액 및 기타 부착물질을 제거하고 간의 일부는 hydroxyproline 측정 및 지질과산화의 측정을 위하여 -70°C에서 보관하였으며 나머지 간은 평량한 다음 조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 glass teflon homogenizer로 마쇄 하였다. 이 마쇄액을 계통분리법에 따라 초원심분리하여 cytosolic 분획 및 microsomal 분획으로 하여 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 4°C이하에서 행하였다.

혈청생화학적 검사

Aminotransferase (AST, ALT), sorbitol dehydrogenase (SDH), total bilirubin 및 γ -glutamyltransferase(γ -GT)의 측정은 시중에서 구입한 Sigma제 kit를 사용하였다.

조직중의 총 collagen양 측정

간조직내 hydroxyproline양은 Jamall 등의 방법[8]에 따라 간조직을 염산으로 가수분해시켜, isopropylalcohol을 넣고 chloramine-T로 산화시킨 후 Ehrlich's reagent solution (p-dimethylaminobenzaldehyde)으로 발색시켜 558nm에서 흡광도를 측정하였다.

간조직의 지질과산화 함량 측정

Ohkawa등의 방법[24]을 변경하여 간 조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 가해 마쇄하고 이 마쇄액에 동일한 buffer를 동량 가하여 3시간 preincubation 시킨 후 8.1% sodium dodecyl sulfate와 20% acetate buffer(pH 3.5)및 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid 를 가한 후 95°C에서 1시간 동안 반응시켜 실온에서 냉각 후에 n-BuOH : Pyridine(15:1)을 첨가하여 15분간 원심 분리하여 생성된 홍색의 n-BuOH : pyridine 층을 취하여 과장 532nm에서 그 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 간 조직 1g 당 malondialdehyde nmole로 표시하였다

효소활성 측정

Xanthine oxidase의 활성 측정은 Stripe과 Della의 방법

[35], Aldehyde oxidase의 활성 측정은 Rajagopalan 등의 방법[32], Superoxide dismutase의 활성 측정은 Marklund 등의 방법[17], Catalase의 활성 측정은 Aebi의 방법[1] 및 Glutathione peroxidase의 활성 측정은 Paglia와 Valentine의 방법[26]에 준하였다.

단백질 정량 및 통계처리

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[16]에 준하여 bovine serum albumin(Siger, Fr. V)을 표준품으로 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 이용하였다.

결 과

혈청생화학적 변화

담도를 결찰하여 간섬유화를 유도한 실험군에 옷나무의 분획 및 성분을 투여하고서 혈중 생화학적 변동을 관찰한 성적(Table 1)으로 담도를 결찰하여 간섬유화를 유도한군에서는 AST, ALT, SDH, γ -GT활성 및 total bilirubin의 양이 현저히 증가되었다. 한편, 옷나무의 메탄올 엑스(250mg/kg), 에틸아세테이트 엑스(250mg/kg), fustin(10mg/kg) 및 sulfuretin(10mg/kg)을 간섬유화를 유도하고 시료를 2주간 각각 경구투여 하므로써 현저히 증가되던 혈중 생화학적 변동이 sulfuretin, fustin, 에틸아세테이트 엑스 및 메탄올 엑

Table 1. The value of clinical biochemistry in sera of *Rhus verniciflua* Stokes on the biliary liver fibrosis in rats

Group	Dose(mg/kg)	ALT	AST	SDH	γ -GT	t-bilirubin
		Karmen IU/L		mU/ml		mg/dl
Normal		21.9±2.98 ^d	59.3±7.31 ^e	17.4±3.11 ^d	29.6±2.90 ^d	0.53±0.08 ^d
Control		40.6±3.29 ^a	280.7±21.5 ^a	34.9±4.14 ^a	65.9±3.18 ^a	7.27±0.98 ^a
UCM	250	35.2±2.98 ^{b,c}	220.4±18.6 ^b	29.6±2.99 ^b	55.5±2.97 ^{b,c}	6.18±1.17 ^{a,b}
UCE	250	33.7±3.11 ^c	190.8±20.1 ^c	25.3±3.27 ^{b,c}	48.3±2.25 ^b	5.58±0.67 ^b
Fustin	10	30.6±2.54 ^c	181.3±16.2 ^c	24.7±2.55 ^{b,c}	40.8±3.12 ^{b,c,d}	5.14±0.49 ^b
Sulfuretin	10	24.1±2.16 ^d	100.4±13.8 ^d	20.5±1.98 ^{c,d}	36.9±3.03 ^{b,c,d}	3.89±0.47 ^c
UDCA	50	25.3±2.06 ^d	110.5±15.6 ^d	18.5±1.74 ^d	34.5±2.45 ^{c,d}	3.31±0.37 ^c

Rats were orally postadministered *Rhus verniciflua* Stokes(UCM, UCE, Fustin, Sulfuretin) and ursodeoxycholic acid(UDCA) daily for consecutive two weeks in biliary liver cirrhosis animal model. Rats were decapitated 24hrs after the last administered of *Rhus verniciflua* Stokes treatment. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for eight experiments. Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's' new multiple range test from normal(p<0.05).

스의 순으로 통계적으로 유의성 있게 정상동물에는 미치지 않으나 억제되었다.

Hydroxyproline양에 미치는 영향

담도를 결찰하여 간섬유화를 유도한 실험군에 윗나무의 분획 및 성분을 투여하고서 간조직중 collagen의 합량을 관찰한 성적(Fig. 1)으로 정상군과 비교할 때 간섬유화를 유도하므로써 약 4.5배정도 증가하던 간 조직중의 hydroxyproline의 양이 윗나무의 분획 및 성분을 2주간 투여하므로써 간섬유화의 유도가 억제되었다. 이러한 결과는 윗나무의 성분인 sulfuletin과 fustin의 투여로서 각각 48% 및 34%정도 현저히 감소되었다.

지질과산화 함량에 미치는 영향

담도를 결찰하여 간섬유화를 유도한 실험군에 윗나무의 분획 및 성분을 투여하고서 간조직중 지질과산화의 함량을 관찰한 성적(Fig. 2)으로 정상군과 비교할 때 간섬유화를 유도하므로써 간 조직중의 지질과산화의 함량이 약 5배정도 증가하던 것이 윗나무의 분획 및 성분을 2주간 투여하므로써 간섬유화의 유도가 억제되었으며 특히 이의 성분인 sulfuletin과 fustin의 투여로서 각각 약 60% 및 47%정도 현저히 감소되었다.

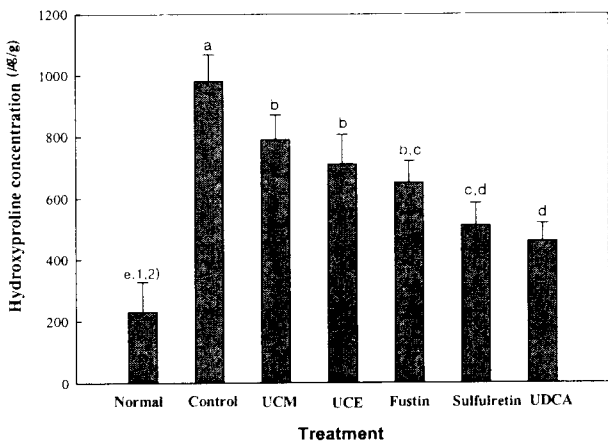


Fig. 1. The concentration of hepatic hydroxyproline of *Rhus verniciflua* Stokes on the biliary liver fibrosis in rats.

- 1) Values are mean ± S.D. for eight experiments.
- 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal (p < 0.05)

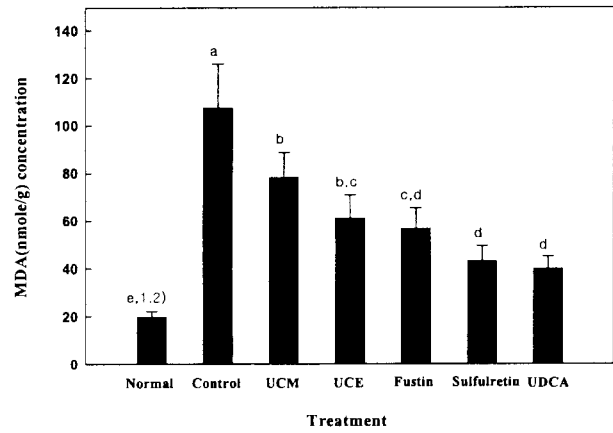


Fig. 2. The concentration of hepatic lipid peroxide of *Rhus verniciflua* Stokes on the biliary liver fibrosis in rats. 1) Values are mean ± S.D. for eight experiments. 2) Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal (p < 0.05)

간 cytosolic 활성산소의 생성계의 변화

간섬유화를 유도한 실험동물에 윗나무의 분획 및 성분을 투여하였을 때 지질과산화의 생성계에 미치는 영향을 검색할 목적으로 간장의 cytosolic 효소인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 활성을 관찰한 성적(Fig. 3)이다. 정상

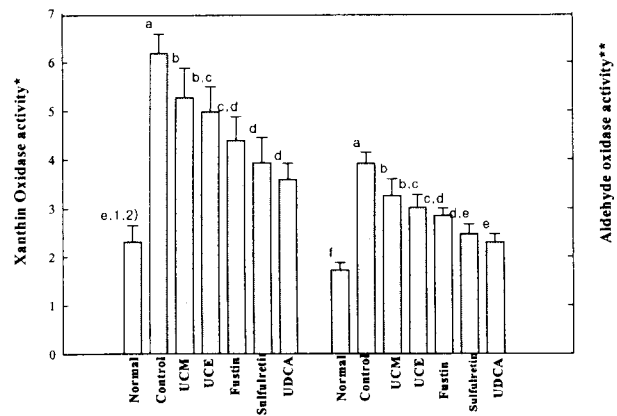


Fig. 3. The concentration of hepatic cytosolic free radical formation enzyme of *Rhus verniciflua* Stokes on the biliary liver fibrosis in rats.

- 1) Values are mean ± S.D. (n = 8)
- 2) Values sharing the same superscript letter are not significantly different each other (p < 0.05) by Duncan's range test.
- *Uric acid nmole/mg protein/min, **2-pyridone nmole/mg protein/min

군의 활성에 비하여 간섬유화를 유도하므로써 현저히 증가되던 xanthine oxidase의 활성이 옷나무의 분획 및 성분을 전처리하므로써 유의성 있게 억제되었으며 이러한 결과는 aldehyde oxidase의 활성에서도 유사하였다.

간 활성산소 제거계에 미치는 영향

담도를 결찰하여 간섬유화를 유도한 실험동물에 옷나무의 분획 및 성분을 투여하고서 지질과산화의 해독계에 미치는 영향을 관찰할 목적으로 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase의 활성을 관찰한 성적(Table 2)이다. 정상군의 함량에 비하여 간섬유화를 유발하므로써 현저히 감소되던 superoxide dismutase의 활성이 옷나무의 분획 및 성분의 전처리로 증가되었으며 이러한 결과는 glutathione peroxidase 및 catalase의 활성에도 유사한 결과를 관찰할 수 있었다.

고 찰

활성산소는 내·외인성 요인에 의한 친 전자성 물질로 탐식된 세포내 미생물을 사멸시키는 숙주의 방어기능을 담당하기도 하지만, 과다하게 생성된 활성산소는 주위조직에

유리되어 세포막의 불포화 지방산을 과산화시켜 투과성을 향진시키고 파괴를 초래하여 세포독성을 유발시키는 것이다. 이로 인하여 생체내 독작용, 노화, 발암 및 면역억제작용 등을 유발하며, 염증 반응시 관찰되는 조직파괴의 가장 중요한 원인이 되기도 한다[12,18]. Oxidative stress에 의한 손상의 유도는 동물의 혈청에서 지질과산화물의 합성을 촉진시킬 뿐만 아니라 조직중 collagen 축적을 자극하여 collagen 생성도 증가시킨다는 상호연관관계를 보고하고 있다[6]. 최근 지질과산화와 간섬유화사이의 연관성은 실험실적으로 많이 연구[22,30,34]되어지고 있으며 지질과산화물의 정량적인 측정과 간섬유화의 지표의 측정은 항산화 및 항섬유화 효과를 동시에 검색할 수 있다는 점에서 큰 의미를 두고 있다[29]. 이에 본 연구에서는 옷나무로부터 생리활성물질의 검색 일환으로 fustine과 sulfuretin을 분리하고서 항섬유화 효과와 항산화 효과를 검색하기 위해 혈청 생화학적 검사, 간조직중 hydroxyproline과 지질과산화물의 농도를 측정하고 지질과산화의 생성계에 미치는 효과를 검색하였다. 그 결과 간섬유화를 유도한 군에서 혈중 생화학적 지표가 현저히 증가되던 것이 옷나무의 분획 및 성분을 경구 투여하므로써 현저히 억제되었다. 이러한 결과로 옷나무 성분에는 간섬유화의 발생을 예방할 수 있는 성분이 함유되어

Table 2. The activities of hepatic free radical scavenger enzyme of *Rhus verniciflua* Stokes on the biliary liver fibrosis in rats

Group	Dose(mg/kg)	Activity		
		SOD*	GP**	Catalase***
Normal		10.2 ± 0.78 ^a	256.3 ± 18.21 ^a	2.93 ± 0.45 _a
Control		5.67 ± 0.39 ^d	155.6 ± 21.20 ^d	1.62 ± 0.15 _d
UCM	250	6.49 ± 0.54 ^{cd}	183.7 ± 19.39 ^{cd}	1.89 ± 0.21 _{c,d}
UCE	250	6.82 ± 0.37 ^c	197.1 ± 15.28 ^{bc}	2.18 ± 0.25 _{b,c}
Fustin	10	7.28 ± 0.33 ^c	205.4 ± 10.42 ^{bc}	2.24 ± 0.36 _{b,c}
Sulfuretin	10	8.26 ± 0.43 ^b	210.6 ± 15.99 ^{bc}	2.59 ± 0.27 _{a,b}
UDCA	50	8.87 ± 0.58 ^b	220.2 ± 13.27 ^b	2.64 ± 0.20 _{a,b}

Rats were orally postadministered *Rhus verniciflua* Stokes (UCM, UCE, Fustin, Sulfuretin) and ursodeoxycholic acid (UDCA) daily for consecutive two weeks in biliary liver cirrhosis animal model. Rats were decapitated 24hrs after the last administered of *Rhus verniciflua* Stokes treatment. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for eight experiments. Data followed by different superscript are statistically significant by Duncan's new multiple range test from normal (p<0.05).

; Superoxide dismutase activity : unit/mg protein/min

**; One unit will inhibit the rate of reduction of cytochrome C by 50% in a coupled system with xanthine and xanthine oxidase at pH 7.8 at 25°C in a 3.0 ml reaction volume.

***; Decreased H₂O₂ nmole/mg protein/min

있음을 알 수 있었다. 또한, 간섬유화 지표인 hydroxyproline 양은 정상군보다 섬유화를 유도하므로써 약 3.5배정도 증가 되던 것이 율나무의 처리로 억제되었으며 지질과산화의 함량도 hydroxyproline의 연구와 비슷하였다. 이러한 결과는 실험동물에서 oxidative stress에 의해 혈청중 thiobarbituric acid의 작용 기질과 지질과산화물인 MDA가 증가되었다는 보고[26]와 일치하였으며, common bile duct ligation으로 담즙울체성 간손상을 유도한 흰쥐에서 UDCA를 24일간 투여하였을 때 혈청간기능 지표의 개선효과는 없었으나 지질과산화는 억제되었다고 보고[15]와 유사하다. 또한 간섬유화 실험동물에서 MDA의 생성은 섬유화의 진행과정에서 일어나며[20], 지질과산화물인 MDA가 collagen 합성과 간의 성(星)세포(Kupffer's cell)의 활성을 자극한다는 연구[5] 결과와도 일치하였다.

활성산소에 의한 세포독성은 체내 해독 기구의 작용에 의하여 무독화 되는 것으로 알려져 있는데, 일반적으로 간장의 해독기전은 간세포의 smooth endoplasmic reticulum에 존재하는 대사 효소계에 의하여 해독 또는 불활성화되어 체외로 배출되는 phase I 단계 phase II 단계로 나눌 수 있다 [33]. Phase I 단계에 관여하는 cytochrome P-450은 mixed function oxidase로서 약물이 결합하는 형태 및 존재조직에 따라 서로 다른 spectrum을 나타내는데, aminopyrine을 기질로 하여 formaldehyde를 생성하는 Type I 과 aniline을 기질로 하여 p-aminophenol을 생성하는 Type II로 분류하고 있으며 이는 microsomal계의 활성산소 생성에 관여 [13,31]하고 있으나 본실험에서는 별다른 유의성이 없었다 (data 제시하지않음)

다른 phase I반응에 관여하는 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase는 non-microsomal oxidation을 하는 것이며 특히 xanthine oxidase는 실험동물에서 virus, 세균 및 기생충 등에 감염되었을 때 활성이 증가된다[37,38]. Xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase는 활성산소를 생성하는 효소로써 두 효소는 cytosol 분획에 존재하는 molybdenum 함유 산화 효소이며 생화학적 반응을 촉매하는 과정에서 반응액중의 산소분자를 전자 수용체로 활용하고 있으므로 superoxide anion, hydrogen peroxide 및 최종적으로 hydroxyl radical을 생성하는데[7], 간섬유화의 유도로 본 효소의 활성이 현저히 증가된 것으로 보아 생체 활성산소의 생성증가는 non-microsomal oxidation에 관여하는 효소계를 활성화시켜

나타나는 결과이며 율나무 성분은 본 효소계를 조절하여 지질과산화의 생성을 억제하는 것으로 생각된다. 활성산소는 대부분이 산화물질로써 superoxide anion, hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$) 및 hydrogen peroxide(H_2O_2) 등이 있으며, 이들 중 hydroxyl radical이 가장 강력한 활성을 지닌 것으로 알려져 있다. Superoxide dismutase는 생체 이물질로 인하여 생성된 O_2 를 H_2O_2 로 변환시키며[4], catalase는 H_2O_2 를 H_2O 와 O_2 로 분해하며, glutathione peroxidase 역시 생성된 활성산소를 H_2O 로 변환시켜 체외로 배설시키는[11] 해독계 효소들이다. 본 실험에서 간 섬유화의 유도로 superoxide dismutase에 어떠한 영향을 주는가를 관찰하였을 때, 섬유화의 유도로 현저히 억제되던 효소의 활성이 율나무 methanol, ethylacetate, fustin 및 sulfuretin의 투여군에서 모두 대조군보다 유의성 있는 증가를 나타내었다. 또한 catalase와 selenium independent glutathione peroxidase의 활성은 superoxide dismutase의 활성과 유사한 경향을 보였다.

본 연구결과로서 실험적으로 유도된 간섬유화 유도시 지질과산화의 생성 증가 현상은 활성산소를 생성하는 효소계인 xanthine oxidase와 aldehyde oxidase의 활성 증가와 활성산소를 제거하는 효소계인 superoxide dismutase, catalase 및 selenium independent glutathione peroxidase의 활성을 선택적으로 저해하여 나타나는 결과로 생각된다. 이러한 작용은 율나무중 fustin과 sulfuretin이 활성물질로 존재하며 이 성분은 간기능 개선과 항산화 및 항섬유화 효과가 있을 가능성이 높다고 사료된다.

요 약

율나무(*Rhus verniciflua* Stokes)로부터 간섬유화에 따른 간독성의 경감기전을 추구할 목적으로 ethyl acetate 분획에서 분리한 fustin 및 sulfuretin을 실험동물에 투여하고서 혈액학적 변화 및 간장 중 활성산소에 미치는 영향 검토한 결과 담도결찰하여 간섬유화를 유도한 군에서는 AST, ALT, SDH, γ -GT활성 및 total bilirubin의 양이 현저히 증가되던 것이 율나무의 메탄올 엑스(250 mg/kg), 에틸아세테이트 엑스(250 mg/kg), fustin(10 mg/kg) 및 sulfuretin(10 mg/kg)을 2주간 각각 경구투여 하므로써 유의성 있게 억제되었다. Hydroxyproline양 및 MDA 농도에서도 간섬유화를 유도하므로써 현저히 증가되던 것이 율나무의 분획 및

sulfuretin과 fustin의 투여로서 각각 약 60% 및 47%정도 감소되었다. 간섬유화를 유도한 cytosolic계 효소인 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 활성이 현저히 증가되었으며 한편 superoxide dismutase, glutathione peroxidase 및 catalase은 간섬유화의 유도로 감소되었으나 옷나무의 분획(메탄올, 에틸아세테이트) 및 성분(fustin, sulfuretin)의 투여로서 조절되었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(2000-2-20900-012-3) 지원으로 수행되었으며 일부는 2001년도 경성대학교 학술연구비에 의하여 지원되었으므로 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Aebi, H. 1974. Catalase in "Method of enzymatic analysis" (H. U. vergmeter, ed.), pp. 673, Academic press, New York.
- Barkley Fred Alexander. 1937. Amonographic study of Rhus and its immediate allies in north and central america, including the west indies. *Ann. of the Missouri Bot. Garden.* **24(3)**, 265-500.
- Das, D., P. W. Pemberton, P. C. Burrows, C. Gordon, A. Smith, R. F. McMahon and T.W. Warnes. 2000. Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. *Biochem. Biophys. Acta.* **1502(3)**, 351-362.
- Free, J. A. 1980. Superoxide, superoxide dismutase and oxygen toxicity in "metal ion activation of dioxygen", pp. 209, J. G. Spiro ed., John Willy & Sons, Inc.
- Freeman, B. A. and J. D. Crapo. 1982. Biology of disease : Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412-426.
- French, S. W., K. Wong, E. Albano, A. I. Hagbjork and M. Ingel-man-Sundberg. 1993. Effect of ethanol on cytochrome p450 2E1(CYP2E1), lipid peroxidation and serum protein adduct formation in relation to liver pathology pathogenesis. *Exp. Mol. Pathol.* **58**, 61-75.
- Granger, D. N. and D. A. Parks. 1983. Role of oxygen radicals in the pathogenesis of intestinal. *The Pharmacologist* **26**, 159-164.
- Jamall, I. S. and V. N. Finelli. 1981. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.* **112**, 70-75.
- Kose, K., C. Yazici and O. Assioglu. 2001. The evaluation of lipid peroxidation and adenosine deaminase activity in patients with Behcet's disease. *Clin. Biochem.* **34(2)**, 125-129.
- Koutras, J., B. H. Billing and P. J. Scheuder. 1984. Prolongrd bile duck obstruction: a new experimental method for cirrhosis in the rat. *Bri. J. Exp. Path.* **65**, 305-312.
- Lawrence, R. A. and R. F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958.
- Lee, K. S., M. Buck, K. Hougum and M. Chojkier. 1995. Activation of hepatic stellate cells by TGFA and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myb expression. *J. Clin. Invest.* **96**, 2461-2468.
- Leonard, V. and J. B. Schenkman. 1987. Decrease in the levels of a constitutive cytochrome P-450 in hepatic microsomes of diabetic rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **142**, 623-630.
- Lin, C. C., P. C. Huang and J. M. Lin. 2000. Antioxidant and hepatoprotective effects of Anoectochilus formosanus and Gynostemma pentaphyllum. *Am. J. Clin. Med.* **28(1)**, 87-96.
- Ljubuncic, P., Z. Tanne and A. Bomzon. 2000. Ursodeoxycholic acid suppresses extent of lipid peroxidation in diseased liver in experimental cholestatic liver disease. *Dig. Dis. Sci.* **45(10)**, 1921-1928.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Rendall. 1951. Protein Measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Marklund, S. and G. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
- Milan, L., R. Jozef, K. Vilan, P. Peter and V. Ladislav. 1989. Free Radicals in Chemistry and Biology, pp.29-31, 283-284. CRC press.
- Mourelle, M., P. Muriel, L. Favari and T. Franco. 1989. Prevention of CCl₄-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundam. Clin. Pharmacol.* **3**, 183-187.
- Muriel, P. and O. R. Suarez. 1995. Role of lipid peroxidation in biliary obstruction in rat. *J. Appl. Toxicol.* **14**, 423-426.

21. Namba, T. 1980. Colored Illustrations of Wakan Yaku. pp 215, Hoikusha Publishing Co. Ltd., Osaka.
22. Nordman, R., C. Ribiere and H. Rouach. 1992. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic. Biol. Med.* **12**, 219-240.
23. Oetting-Deems, R., P. L. Skypala, A. Martinez-Hernandez, L. S. Friedman and M. I. Friedman. 1993. Dietary fat exacerbates liver disease in bile duct-ligated rats. *J. Nutr.* **123**, 1414-1420.
24. Ohkawa, H., N. Ohishi and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
25. Ono, M., C. Sekiya, M. Ohhira, M. Namiki, Y. Endo, K. Suzuki, Y. Matsuda and N. Taniguchi. 1991. Elevated level of serum Mn-superoxide dismutase in patients with primary biliary cirrhosis: possible involvement of free radicals in the pathogenesis in primary biliary cirrhosis. *J. Lab. Clin. Med.* **118**, 476-483.
26. Paglia, E. D. and W. N. Valentine, W. N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**, 158-169.
27. Pancewicz, S. A., E. Skrzydlewska, T. Hermanowska-Szapakowicz, J. M. Zajkowska and M. Kondrusik. 2001. Role of reactive oxygen species(ROS) in patients with erythema migrans, an early manifestation of Lyme borreliosis. *Med. Sci. Monit.* **7(6)**, 1230-1235.
28. Panozzo, M. P., D. Basso, L. Balint, M. R. Biasin, P. Bonvicini, P. Metus and M. Plebani. 1995. Altered lipid peroxidation glutathione ratio in experimental extrahepatic cholestasis. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **22**, 266-271.
29. Parola, M., G. Leonarduzzi, F. Biasi, E. Albano, M. E. Biocca, G. Poli and M. U. Dianzani. 1992. Vitamin E dietary supplementation protects against carbon tetrachloride-induced chronic liver damage and cirrhosis. *Hepatology* **16**, 1014-1021.
30. Parola, M., G. Leonarduzzi, G. Robino, E. Albano, G. Poli and M. U. Dianzani. 1996. On the role of lipid peroxidation in the pathogenesis of liver damage induced by long-standing cholestasis. *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 351-359.
31. Past, M. R. and D. E. Cook. 1982. Effect of diabetes on rat liver cytochrome P-450. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3329-3334.
32. Rajagopalan, K.V., I. Fridovic'h and P. Handler. 1962. Hepatic aldehyde oxidase. In : Purification and properties, *J. Biol. Chem.* **237**, 922-928.
33. Routledge, P, A. and D. G. Shand. 1979. Presystemic drug elimination. *Res. Pharmacol. Toxicol.* **19**, 447-468.
34. Sokol, R. J., M. Devereaux, G. W. Mierau, K. M. Hambrigh and R. H. Shikes. 1990. Oxidant injury to hepatic mitochondrial lipids in rats with dietary copper overload: Modification by vitamin E deficiency. *Gastroenterology* **99**, 1061-1071.
35. Stirpe, F. and C.E. Della. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O). *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3863.
36. Tsai, L. Y., K.T. Lee and S.M. Tsai. 1993. Change of lipid peroxide levels in blood and liver tissue of patients with obstructive jaundice. *Clin. Chim. Acta.* **215**, 41-50.
37. Tubaro, E., F. Banci, B. Lotti and C. Croce. 1976. Xanthine oxidase activation in animal liver during infectious processes. *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)* **26**, 2185-2186.
38. Tubaro, E., B. Lotti, C. Croce, G. Caballo and G. Borelli. 1980. Liver xanthine oxidase increase in mice in three pathological models. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1939-1942.
39. Yoon, B.J. 2001. Pharmacological Evaluation on Anti-inflammatory Effects of the Flavonoids Isolated from the Heartwood of *Rhus verniciflua* Stokes. Ph. D. Thesis. Kyungshung University. Busan.

(Received April 24, 2002; Accepted June 11, 2002)