

자보양영환의 물추출물이 사염화탄소로 유발된 간 손상에 미치는 영향

이형철 · 황상구 · 남은영 · 김대근 · 박정원 · 이영찬 · 박승택¹ · 전병훈*

원광대학교 한의과대학 병리학교실
¹의과대학 해부학교실

Protective Effect of Jaboyangyeong-hwan Water Extracts on CCl₄-Induced Liver Damage

Hyung Chul Lee, Sang Gu Hwang, Eun Young Nam, Dae Geun Kim, Jeong Won Park,
Young Chan Lee, Seung Tack Park¹ and Byung Hun Jeon*

*Department of Pathology, College of Oriental Medicine, and ¹Department of Anatomy,
College of Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea*

Abstract

Jaboyangyeong-hwan (JAE) has been known as a traditional medicine for the treatment of debility, fatigue, and liver diseases. The hepatoprotective effect of the water extract of Jaboyangyeong-hwan was investigated against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatic damage. A single intraperitoneal injection of CCl₄ produced liver damage in rats as manifested by the significant rise of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and alkaline phosphatase (ALP) in serum as compared to those of untreated normal group. Pretreatments of rats with the JAE extract (300, 600, and 1200 mg/kg for 7 days) were significantly reduced AST, ALT, and ALP levels compared with CCl₄-treated control group. Treatment of rats with CCl₄ led to significantly increase in lipid peroxidation and significantly decrease in cytochrome P450 and P450 reductase. The oral administration of the JAE extract significantly inhibited the accumulation of microsomal thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) and increased the cytochrome P450 and P450 reductase activity. All these biochemical alterations resulting from CCl₄ administration were inhibited by the pretreatment with JAE extract. These results suggest that JAE water extract can be useful as a hepatoprotective agent.

Key words – Jaboyangyeong-hwan extract, hepatoprotective effect, carbon tetrachloride, hepatic damage, rat

서 론

우리 나라는 간 질환의 발생율이 외국에 비해 상당히 높은 편이며, 간 질환의 예방 및 치료를 위한 건강식품에 대

한 선호도 또한 무척 높다. 현대 의학의 눈부신 발전에도 불구하고 간 질환은 특효약이나 효과적인 치료법이 제시되지 않아 치료에 어려움을 겪고 있는 분야중의 하나이다. 간은 신체에서 여러 가지 약물(drug)이나 이물질들(xenobiotics)을 해독시키는 것 외에도 다른 중요한 기능을 수행하는 장기이다. 섭취, 흡입, 피부 또는 주사 등을 통해 체내에 흡수된 다양한 약물 및 이물질들(carcinogen, environmental

*To whom all correspondence should be addressed
Tel : 063-850-6835, Fax : 063-850-6843
E-mail : omdjbh@wonkwang.ac.kr

pollutant, insecticide 등)은 간에서 생체변환되어 가능한 무독한 물질로 전환되는데, 이러한 변화를 촉매하는 일련의 효소계가 간에 다량 존재한다. 대부분의 이물질들은 간 microsomes의 phase I과 phase II 두가지 효소군에 의해서 대사가 이루어진다. Phase I 효소들은 화합물에 작용기를 첨가함으로써 극성을 증가시키는 역할을 하며, phase II 효소들은 화합물의 작용기에 아미노산이나 펩티드를 결합시키므로 무독화시키고 체외로 쉽게 배설될 수 있도록 하는 역할을 한다[21]. 최근 간 질환에 대한 관심의 고조와 더불어 천연자원으로부터 간 기능 향상 및 간 질환 치료제의 개발을 위한 연구가 시도되어 왔으며, 이들 중 glycyrrhizin, gomisin 및 silymarin 등은 현재 급·만성 간 질환 치료제로 이용되고 있다. 최근 간 기능 향상 및 간 기능 보호작용을 나타내는 것으로 보고된 것은 *Artemisia absinthium* [8] 및 *Ambrosia maritima* [1] 추출물, *Hymenaea martiana*로부터 추출한 flavonoid인 astilbin [5], 그리고 *Picrorhiza kurroa*로부터 분리한 picroliv [27] 등이 있다. 국내에서는 담자균류인 영지(*Ganoderma lucidum*) 자실체로부터 추출한 G009도 간세포 보호효과가 있다고 보고되었다[15]. 또한 한방에서 자양 및 강장제로 널리 사용되는 갈화(*Pueraria lobata*) 추출물은 알코올 해독에 효과가 있으며[14], 구기자(*Lycii fructus*)도 간세포 독성을 현저히 완화시키고 물분획물의 주요 성분인 비테인이 사염화탄소로 인하여 저하된 대사능력을 회복시킴으로서 간 보호효과가 있는 것으로 보고되었다[11]. 한방에서 사용되는 자보양영환은 백작약, 황기, 백출, 원지, 숙지황, 인삼, 오미자, 천궁, 당귀, 산약, 진피, 백복령, 건지황, 산수유의 약재로 구성되며, 이는 자보폐간의 효능이 있으므로 환제로 제조되어 간허증상의 치료제로 사용된다[32].

따라서 본 연구에서는 자보폐간의 효능을 갖고 있는 자보양영환(Jaboyangyeong-hwan)의 물추출물이 간 보호효과가 있는지를 알아보기 위하여 자보양영환의 조제에 사용하는 동량의 한약재를 열수 추출하여 얻어진 추출물(Jaboyangyeong-hwan extract, JAE)을 경구투여한 후 사염화탄소로 독성을 유발시킨 흰쥐의 간에 대한 보호효과를 연구하였다.

재료 및 방법

시험물질의 제조

실험에 사용된 자보양영환의 한약재 조성은 동의보감에

준하였으며[32] 건조된 약재는 서울 경동시장에서 구입하였다. 한약재의 형태가 완전한 것만을 선별하여 물로 세척한 다음 음건하여 사용하였고 자보양영환의 구성약재 조성 및 분량은 Table 1과 같다. 일반적으로 자보양영환은 환제로 제조하여 복용하는데, 본 연구에서는 환제로의 제조 및 실험상의 편리함을 고려하여 자보양영환에 사용되는 약재들을 cutting mill로 세절한 다음 2L의 증류수로 3시간 동안 열수추출하였다. 추출액은 거즈로 거른 다음 원심분리 및 여과지로 여과하였으며, 추출액은 50℃에서 회전농축기로 농축하였다. 농축된 시료는 동결건조기로 완전 건조를 하였으며 얻어진 자보양영환 열수추출물(JAE)의 수율은 15%이다.

실험동물의 사육조건

실험동물은 생후 6주 경과한 180~200 g의 Sprague-Dawley (SD)계 흰쥐 수컷만을 선별하여 사용하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 온도 23±1℃, 습도 55±5%, 배기 10~18 회/hr, 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 300~500 Lux의 사육환경에서 rat 용 폴리카보네이트 사육상자(240W×400L×180H mm)에 2마리씩 넣어 사육하였다. 실험동물의 사료는 신촌사료(주) 제품의 고행사료를 사용하였으며 깔짚은 (주)삼육 제품의 버드나무송으로 만든 것을 사용하였다. 음수는 멸균된 수돗물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

시험물질 투여 및 실험군

정상군은 독성물질 투여나 시험물질의 균질액을 급여하지 않고 생리식염수만을 경구 투여하였으며, CCl₄ 단독 투여군인 대조군은 생리식염수를 경구투여하면서 독성물질인 사염화탄소를 복강 투여하였다. 자보양영환의 열수추출물 투여군인 JAE300, JAE600, 그리고 JAE1200은 각각 체중 kg 당 300 mg, 600 mg, 1200 mg에 해당하는 농도로 1일 1회씩 7일 동안 경구투여하였다. 검액의 최종 투여 후 사염화탄소를 체중 kg 당 1 ml의 용량을 복강주사로 투여하였다. 사염화탄소 투여 후 24시간 사육한 흰쥐를 20% urethane으로 마취한 다음 심장천자로 혈액을 채취하였다. 채혈 후 회복하여 간을 적출하였으며 실험군의 동물 수는 각각 6마리씩 사용하였다.

Table 1. The prescription of Jaboyangyeong-hwan

Herbal medicine	Herbal common name	Amount (g)
Paekchakyak	Radix Paeoniae Lactiflorae	22.4
Hwanggi	Radix Astragali	22.4
Paekchul	Rhizoma Atractylodis Macrocephalae	22.4
Woji	Radix Polygalae Tenuifoliae	22.4
Sukchiwang	Radix Rehmanniae Glutinosae Conquitae	15.0
Insam	Radix Ginseng	15.0
Omicha	Fructus Schizandrae Chinensis	15.0
Chuanxiong	Rhizoma Cnidii	15.0
Tanggwi	Radix Angelicae Sinensis	15.0
Sanyak	Radix Dioscoreae Oppositae	15.0
Chinpi	Pericarpium Citri Reticulatae	11.9
Paekpongnyong	Sclerotium Poria Cocos	10.4
Gangjihwang	Radix Rehmanniae Glutinosae Conquitae	7.5
Sansuyu	Fructus Corni Officinalis	6.0
Total amount (g)		215.4

간 독성 유발

건조된 추출물(300, 600, 1200 mg/kg) 혹은 생리식염수를 7일 동안 매일 경구 투여한 흰쥐에 사염화탄소를 복강 투여하여 간손상을 유도하였다. 사염화탄소는 corn oil에 1:1 (V/V)의 비율로 혼합하여 체중 kg 당 1 ml의 용량을 1회 복강 투여하여 간 독성을 유발시켰다.

혈청의 간 기능 지표효소 측정

채취한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청의 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), 그리고 alkaline phosphatase (ALP)는 혈청 자동분석기(Hitachi-7150, Hitach medical Co.)로 측정하였다.

간 조직의 Microsome 분리

Bansal 등의 방법[2]에 따라 적출한 흰쥐의 간을 잘게 썰고, 150 mM KCl을 함유한 30 mM Hepes 완충액(pH 7.4)으로 5배 희석하여 균질화한 다음 원심분리관에 넣고 700 g로 20분 동안 원심분리하였다. 상등액은 원심분리 및 초고속원심분리과정을 거쳐 최종 pellet을 얻었으며 Hepes 완충액으로 재균질화하여 microsome 분획을 얻었다. Microsome을 분리하는 전 과정은 4°C하에서 수행하였으며 시료

는 -70°C에 보관하면서 각종 실험에 사용하였다

단백질 정량

Bovine serum albumin (BSA)을 표준물질로 사용하여 Lowry 등의 방법[17]에 따라 단백질 농도를 측정하였다.

간 조직의 TBA 반응성물질의 함량측정

Microsomal membrane의 지질과산화 정도를 비교하기 위하여 시험관에 microsome을 넣은 후 0.1 mM NADPH와 ADP-Fe²⁺ (0.5 mM ADP, 0.02 mM Fe²⁺)를 첨가하고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액은 Suematsu 등[28]의 방법에 따라 532 nm에서 흡광도를 측정으로 thiobarbituric acid 반응성물질의 함량을 결정하였다.

간의 이물질대사효소 활성측정

Cytochrome P450의 함량은 Omura와 Sato의 방법[20]을 따랐으며 간 microsome 단백질이 1.0 mg/ml의 농도가 되도록 30 mM Hepes 완충액(pH 7.4)으로 희석하여 측정하였다. Cytochrome P450은 파장 450 nm와 490 nm에서의 흡광도 차이로 환산하였으며, cytochrome P450 reductase의 활성도는 William와 Kamin의 방법[30]에 따라 550 nm에서 3분간 흡광도 변화를 측정하여 밀리몰흡광계수 21

mM¹cm¹를 이용하여 cytochrome c의 환원속도로 계산하였다.

통계학적 분석

실험결과는 각 군의 평균(Mean)±표준편차(SD)로 표기하였으며, 정상군 및 대조군과 JAE 투여군과의 상호비교는 Student's t-test로 유의성을 검정하여 P<0.05 이하의 경우 유의한 차이가 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

자보양영환은 백작약, 황기, 백출, 원지, 숙지황, 인삼, 오미자, 천궁, 당귀, 산약, 진피, 백복령, 견지황, 산수유 등의 약재로 구성되며, 이는 자보폐간의 효능이 있어 간허 등의 증상에 사용되는 처방이다[32]. 본 연구는 자보양영환이 간 기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 사염화탄소로 간 독성을 유발한 흰쥐를 사용하여 실험하였다. 환으로 제조되어 사용되는 자보양영환을 실험동물에 적용하기 위해서는 먹이에 첨가한 식이방법을 선택해야 하는 어려움과 자보양영환의 복용상에 있어 사용자들의 편리함을 제공하기 위하여 본 연구에서는 자보양영환처방과 동일한 양의 약재를 물로 추출하였으며, 그 추출물을 흰쥐에 경구 투여함으로써 간 기능 향상효과가 있는지 알아보았다. 즉, 시험물질인 자보양영환의 물 추출물을 7일동안 흰쥐에 경구 투여하였으며 간 독성물질로 잘 알려진 사염화탄소를 1회 복강 투여함으로써 간 손상을 유도하여 검액의 간 기능 회복에 미치는 영향을 조사하였다.

생체내에서 간은 영양물질들의 물질대사를 담당하는 동시에 해독작용을 수행하는 중요한 장기이다. 간 기능과 관련된 transaminase들은 아미노기 전이 반응을 촉매하는 효소의 총칭으로 체내에 널리 존재하는 효소이다. Aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)는 모든 장기에 존재하나 AST의 경우 간, 심장, 골격근에 많이 존재하는 반면 ALT는 간세포에 특이적으로 높게 존재하는 것이 특징이다. 혈청 AST와 ALT 활성은 간세포의 변성이나 괴사를 반영하는 효소로서 간 조직 손상시 다량 혈중으로 유출된다[29]. 간 기능이 손상되면 혈액내 총 단백질 또는 albumin 수치가 감소하고 AST, ALT 및 ALP가 상승되며, bilirubin 및 γ-GTP 활성 등이 증가하는 것으로

알려져 있다[7,31]. 본 실험에서 사용한 사염화탄소는 간 독성 유발물질로 잘 알려진 화학물질로써 free radical 생성에 의해 간 손상이 유발되는 것으로[10] 간 질환 연구에 많이 이용되고 있다. 정상군의 AST와 ALT활성은 115와 43 IU/L인데 반해 사염화탄소 단독 투여군은 1,910와 640 IU/L으로 나타내어 사염화탄소의 단독 투여군은 정상군에 비해 AST와 ALT의 활성도가 각각 16.6배와 14.9배로 증가되었다(Table 2). 이러한 결과는 간 기능의 지표로 사용되는 AST와 ALT의 값이 독성물질에 노출되었을 때 증가하는 경향과 매우 잘 일치하고 있다[6,18]. 또한 간장질환 및 담도계 질환의 지표로 사용되는 담도계 효소 ALP도 정상군이 531 IU/L인데 반해 대조군은 810 IU/L으로 1.53배 증가되었다. 이러한 결과는 사염화탄소의 투여시 일반적으로 혈청내 효소들(AST, ALT, ALP 등)의 활성도가 급격히 증가된다는 보고[3,19]와 일치하여 사염화탄소의 투여에 의해 간 손상이 유도되었음을 확신할 수 있었다(Table 2). 반면 추출물 및 사염화탄소를 모두 투여한 JAE300, JAE600, JAE1200 실험군들에서 AST의 활성이 각각 686, 718 및 796 IU/L으로 대조군인 사염화탄소 단독 투여군(1,910 IU/L)에 비해 현저한 감소를 나타내었으나 정상군(115 IU/L)의 수준까지는 회복되지 못하였다. 또한 모든 실험군에서 ALT

Table 2. Effects of the water extract of Jaboyangyeong-hwan on AST, ALT and ALP in carbon tetrachloride-intoxicated rats

Experimental groups	Serum biochemical parameters (IU/L)		
	AST	ALT	ALP
Normal	115 ± 23	43 ± 10	531 ± 29
CCl ₄	1,910 ± 45 ¹	640 ± 23 ¹	810 ± 23 ¹
JAE300	686 ± 25 ^{1,2}	209 ± 16 ^{1,2}	505 ± 12 ²
JAE600	718 ± 24 ^{1,2}	115 ± 18 ^{1,2}	460 ± 19 ²
JAE1200	796 ± 31 ^{1,2}	227 ± 21 ^{1,2}	505 ± 20 ²

The water extracts of Jaboyangyeong-hwan (JAE300: JAE extracts 300 mg/kg body weight, JAE600: JAE extracts 600 mg/kg body weight, JAE1200: JAE extracts 1200 mg/kg body weight) mixed in saline were given orally for 7 days. Normal and control (CCl₄) animals were saline treatment. After 24 hr administration of CCl₄, all animals were sacrificed, and liver was quickly removed and weighted. The values are expressed as mean ± SD of eight rats in each group.

¹: Significantly different from the normal group (p<0.05).

²: Significantly different from the CCl₄ group (p<0.05).

의 활성도는 각각 209, 115 및 227 IU/L으로 대조군인 사염화탄소 단독 투여군(640 IU/L)에 비해 유의적인 감소를 나타내었으나 AST와 마찬가지로 정상군(43 IU/L)의 수준까지는 회복되지 못하였다. 반면 alkaline phosphatase (ALP)는 자보양영환 추출물의 투여군들에서 각각 505, 460, 505 IU/L의 수준으로 정상군과 유사한 수준으로 회복되었음을 알 수 있었다(Table 2). 본 실험결과는 간 기능 향상효과가 있는 것으로 알려진 중국 전통한약재인 *Fructus schisandrae* [12], *Swertia chirata* [19] 그리고 *Teucrium stocksianum* [24]의 투여로 인해 증가된 이들 효소의 활성이 유의하게 감소된다고 보고한 결과와 일치함을 보여준다. 이상의 결과들에서 자보양영환 추출물이 사염화탄소 투여에 의해 증가된 혈청의 간기능 지표들(AST, ALT, ALP)의 활성을 현저히 감소시키는 결과를 볼 때 자보양영환 추출물은 사염화탄소에 의해 유도된 간세포 손상을 어느 정도 회복시키는 효과가 있음을 시사해준다. 간 독성 물질인 사염화탄소는 독성 중간대사산물인 trichloromethyl ($\text{CCl}_3 \cdot$), trichloromethylperoxy ($\text{CCl}_3\text{O}_2 \cdot$), 혹은 chlorine ($\text{Cl} \cdot$)과 같은 free radical을 형성하여 lipid peroxidation을 증가시킬 뿐만 아니라, cytochrome P450의 파괴로 인하여 liver microsomal cytochrome P450과 연관된 효소들이 급격히 감소되며 결국에는 liver necrosis를 유발한다[4,25]. 따라서 위에서 얻어진 혈청의 간 기능 지표 효소들의 결과를 뒷받침하기 위하여 간 조직의 lipid peroxidation 및 이물질대사효소들의 활성을 측정하였다. 간 조직의 지질과산화 지표로 이용되는 thiobarbituric acid (TBA) 반응성 물질의 함량은 NADPH와 ADP-Fe^{2+} 를 첨가하여 지질과산화 반응을 유도한 후 malondialdehyde (MDA) 생성량을 측정하였다. 정상군의 MDA 함량은 10 nmol/mg protein을 나타낸 반면 사염화탄소의 단독 투여군은 14 nmol/mg protein으로 정상군에 비해 유의한 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소가 체내에서 free radical을 형성하도록 유도하고 그로 인해 세포막의 불포화지방산을 산화시킴으로써 막 기능을 파괴하게 된다[26]. 즉 사염화탄소 투여군의 간 microsome에서 지질과산화 생성물이 증가되었다는 것을 암시해 준다. 반면 자보양영환 추출물을 투여한 JAE300, JAE600 및 JAE1200 실험군은 각각 11, 10, 그리고 9 nmol/mg protein으로 모든 실험군들이 사염화탄소를 투여한 대조군에 비해 유의한 감소를 나타내면서 정상군과 유사한 수준으로 회복시킴을 관

찰하였다(Fig. 1). 사염화탄소는 지질과산화의 지표인 MDA 수준을 증가시키며 반면 간 기능 회복효과가 있는 *Schisandra chinensis*의 추출물[12]이나 α -tocopherol[22]을 처리한 경우 증가된 MDA 수준을 감소시키는 것을 보여주었으며, 이는 JAE가 사염화탄소로 유도되는 MDA 수준을 감소시키는 본 실험결과와 일치함을 보여주었다. 본 연구에서 자보양영환 추출물을 투여한 경우 지질과산화물 생성을 억제하는 것은 자보양영환의 약재 조성물(Table 1) 중 항산화 활성이 높은 인삼[23] 및 백작약과 산수유[16] 등이 포함되어 있으므로 이들의 항산화 작용으로 간 조직의 산화적 손상이 방지되는 것으로 사료된다. 간 독성물질인 사염화탄소는 lipid peroxidation 및 liver necrosis를 유발하며 cytochrome P450 및 그와 연관된 효소의 파괴로 효소 활성도가 현저히 감소되는데, 본 연구 결과에서도 사염화탄소의 단독투여군의 cytochrome P450과 P450 reductase는 0.51 nmole/mg protein 및 24 nmole/min/mg protein으로 정상군(0.79 nmole/mg protein 및 42 nmole/min/mg protein)에 비

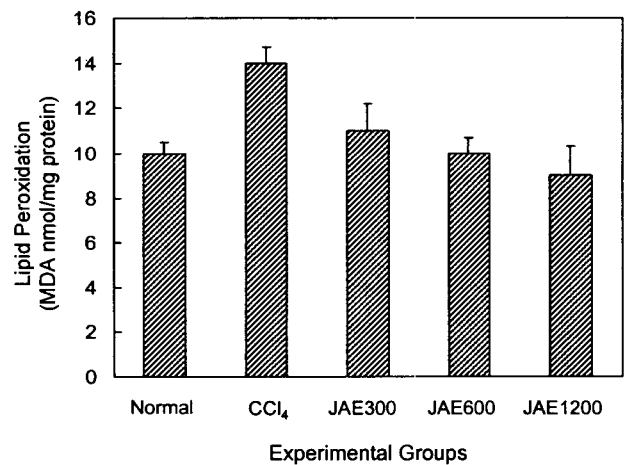


Fig. 1. Effects of the water extract of Jaboyangyeong-hwan on hepatic lipid peroxidation in carbon tetrachloride-intoxicated rats.

The water extracts of Jaboyangyeong-hwan (JAE300: JAE extracts 300 mg/kg body weight, JAE600: JAE extracts 600 mg/kg body weight, JAE1200: JAE extracts 1200 mg/kg body weight) mixed in saline were given orally for 7 days. Lipid peroxidation was monitored by the thiobarbituric acid reactive substance test of Suematsu *et al.* [28]. The values are expressed as mean \pm SD of eight rats in each group. CCl_4 group is significantly different from the normal group ($p < 0.05$). JAE300, 600, 1200 groups are significantly different from the CCl_4 group ($p < 0.05$).

해 유의한 감소가 확인되었다. 반면 자보양영환 추출물을 투여한 실험군들에서는 두 가지 효소 값이 0.62~0.65 nmole/mg protein 및 37~45 nmole/min/mg protein 내외로 대조군에 비해 모두 유의한 증가를 나타내었으나 정상군의 수준으로 회복되지는 않았다(Table 3). 이외에도 수컷 wistar rat에서 CCl₄를 투여한 경우 cytochrome P450 및 b₅가 모두 감소되었으나 eugenol을 처리한 경우 이들 phase I component의 감소를 유의하게 억제하였고 CCl₄에 의해 유도된 microsomal lipid에 대한 손상 및 TBARS의 축적에 의한 peroxidative damage에 대해 보호효과를 나타낸 연구결과가 있다[13]. 또한 송약(*Hedera rhombea*) 추출물의 투여시 사염화탄소의 독성으로 감소되었던 cytochrome P450의 7-ethoxyresorufin-O-deethylation (EROD) 및 7-benzyl-oxyresorufin-O-dealkylation (BROD) 활성이 회복됨을 보고한 바 있다[9]. 이러한 연구결과와 마찬가지로 본 실험에서도 자보양영환 추출물의 투여는 해독작용에 관여하는 이물질대사효소의 활성을 증가시켜 간 보호 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

Table 3. Effects of the water extract of Jaboyangyeong-hwan on liver microsomal cytochrome P450 and P450 reductase in carbon tetrachloride-intoxicated rats

Experimental groups	Enzyme activity	
	Cytochrome P450 (nmoles/mg of protein)	P450 reductase (nmoles/min/mg of protein)
Normal	0.79 ± 0.09	42 ± 4
CCl ₄	0.51 ± 0.06 ¹	24 ± 5 ¹
JAE300	0.62 ± 0.05 ^{1,2}	37 ± 5 ²
JAE600	0.65 ± 0.08 ²	45 ± 9 ²
JAE1200	0.64 ± 0.09 ²	42 ± 9 ²

The water extracts of Jaboyangyeong-hwan (JAE300: JAE extracts 300 mg/kg body weight, JAE600: JAE extracts 600 mg/kg body weight, JAE1200: JAE extracts 1200 mg/kg body weight) mixed in saline were given orally for 7 days. After 24 hr administration of CCl₄, all animals were sacrificed, and liver was quickly removed and weighted. Liver microsome fractions were prepared by centrifugation according to the method of Bansal *et al.* [2]. The values are expressed as mean ± SD of eight rats in each group.

¹: Significantly different from the normal group (p<0.05).

²: Significantly different from the CCl₄ group (p<0.05).

이상의 결과를 종합해 볼 때 자보양영환의 물 추출물은 항산화 효과가 탁월하므로 이물질대사효소(cytochrome P450 및 P450 reductase)의 수준을 정상적인 수준으로 회복시키는 동시에 free radical의 소거작용으로 지질과산화물 생성을 억제하여 간 보호효과를 나타내는 것으로 판단된다. 또한 본 연구에서 사용된 투여농도들 중에 자보양영환의 물 추출물 300 mg/kg 투여는 간기능 지표효소들의 회복정도가 미약한 반면 600 및 1200 mg/kg의 투여한 경우 정상적인 수준으로 회복되므로 자보양영환의 물 추출물은 600~1200 mg/kg의 처리농도가 손상된 간 기능의 회복에 가장 좋은 것으로 판단된다.

요 약

자보양영환은 자보폐간의 효능이 있어 간허증상의 치료제로 사용되었던 전통약물로 잘 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 사염화탄소로 간 손상을 유도한 흰쥐에서 자보양영환의 물추출물이 간 보호효과가 있는지 알아보았다. 사염화탄소의 1회 복강투여는 혈청 aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP)의 유의적인 증가가 관찰되어 사염화탄소에 의한 간 손상이 유발되었음을 알 수 있었다. 자보양영환 물 추출물(300, 600, and 1200 mg/kg, 7 days)을 전 처리한 흰쥐에서는 사염화탄소 단독 투여군인 대조군에 비해 AST, ALT, ALP의 유의한 감소양상이 관찰되었다. 또한 사염화탄소의 투여는 microsome의 지질과산화가 유도되었으며, 이물질대사효소(cytochrome P450 및 P450 reductase)의 유의한 감소가 확인되었다. 자보양영환 물추출물의 경구투여는 간의 지질과산화 지표인 microsome의 TBARS 생성을 억제하였으며 cytochrome P450 및 P450 reductase 활성도가 대조군에 비해 유의한 증가되어 정상수준으로 회복되었다.

자보양영환 추출물의 투여는 사염화탄소의 투여에 따른 생화학적 지표들의 변화를 억제하는데, 이러한 실험결과에서 자보양영환의 물추출물은 사염화탄소로 유도한 간 독성에 대하여 해독작용 및 간 보호효과가 있는 것으로 판단된다.

감사의 글

남은영 연구원은 2001년 한국과학재단지원 인턴연구원

지원사업의 지원을 받아 연구에 참여하였으며, 본 연구는 한국과학재단 지정 전북도청지원의 원광대학교 의학자원 연구센터(MRRC) 연구지원비에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Ahmed, M.B. and M.R. Khater. 2001. Evaluation of the protective potential of *Ambrosia maritima* extract on acetaminophen-induced liver damage. *J. Ethnopharmacol.* **75**, 169-174.
- Bansal, S.K., J. Love and H.L. Gurtoo. 1983. High pressure liquid chromatographic separation of multiple forms of cytochrome P-450. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **117**, 268-274.
- Berman, E., D.E. House, J.W. Allis and J.E. Simmons. 1992. Hepatotoxic interactions of ethanol with allyl alcohol or carbon tetrachloride in rats. *J. Toxicol. Environ. Health* **37**, 161-176.
- Castro, J.A., H.A. Sasame, H. Sussman and J.R. Gillette. 1968. Diverse effects of SKF 525-A and antioxidants on carbon tetrachloride-induced changes in liver microsomal P-450 content and ethylmorphine metabolism. *Life Sci.* **7**, 129-136.
- Closa, D., M. Torres, G. Hotter, G. Bioque, O.S. Leon, E. Gelpi and J. Rosello-Catafau. 1997. Prostanoids and free radicals in CCl₄-induced hepatotoxicity in rats: effect of astilbin. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **56**, 331-334.
- Cohen, J.A. and M.M. Kaplan. 1979. The SGOT/SGPT ratio - an indicator of alcoholic liver disease. *Dig. Dis. Sci.* **24**, 835-838.
- Dinman, B.D., E.A. Hamdin, C.F. Fox and W.J. Frajola. 1963. CCl₄ toxicity. III. Hepatostructural and enzyme change. *Arch. Environ. Health* **7**, 630-646.
- Gilani, A-U. and K.H. Janbaz. 1995. Preventive and curative effects of *Artemisia absinthium* on acetaminophen and CCl₄-induced hepatotoxicity. *Gen. Pharmacol.* **26**, 309-315.
- Hong, Y.S., H.L. Kim, Y.S. Pae and S.S. Park. 1995. Chemoprotective effect of methanol extract of *Hedera rhombea* leaves on the reversal of cytochrome P-450 activities induced by carbon tetrachloride. *J. Appl. Pharmacol.* **3**, 245-250.
- Horvath, T., E. Karge, T. Javor and W. Klinger. 1987. Effects allopurinol, (+)-cyanidanol-3 and dihydroquinoline-type antioxidants on rat hepatic microsomal cytochrome P-450 and monooxygenases. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* **25**, 201-203.
- Kim, S.Y., H.P. Kim, M.K. Lee, S.H. Kim, H.M. Han, A. Moon, H. Huh and Y.C. Kim. 1993. Effects of betaine on the CCl₄-induced toxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Yakhak Hoeji* **37**, 499-503.
- Ko, K.M., S.P. IP, M.K.T. Poon, S.S. Wu, C.T. Che, K.H. Ng and Y.C. Kong. 1995. Effect of a lignan-enriched fructus *Schisandrae* extract on hepatic glutathione status in rats: Protection against carbon tetrachloride toxicity. *Planta Med.* **61**, 134-137.
- Kumaravelu, P., D.P. Dakshinamoorthy, S. Subramaniam, H. Devaraj and N.S. Devaraj. 1995. Effect of eugenol on drug-metabolizing enzymes of carbon tetrachloride-intoxicated rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **49**, 1703-1707.
- Lee, J.S., N.Y. Kim, K.H. Lee, G.S. Kim, H.J. Park, J.W. Choi and S.H. Kim. 2000. Effects of flower of *Pueraria lobata* on lipid peroxidation and activities of alcohol metabolic enzymes in alcohol-treated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 935-942.
- Lee, J.W., H. Jeong, M.D. Han, S.J. Baek, Y.S. Kim and S.M. Kang. 1996. Effect of G009 on CCl₄-induced hepatic injury and lipid peroxidation in rats. *Korean. J. Pharmacogn.* **27**, 159-166.
- Lim, D.K., U. Choi and D.H. Shin. 1996. Antioxidative activity of ethanol extract from Korea medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 83-89.
- Lowry, O.H., H.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Masevich, T.G. and L.G. Ermolaeva. 2000. Chronic hepatitis: indicators of disease activity. *Ter. Arkh.* **72**, 17-18.
- Mukherjee, S., A. Sur and B.R. Maiti. 1997. Hepatoprotective effect of *Swertia chirata* on rat. *Indian J. Exp. Biol.* **35**, 384-388.
- Omura, T. and R. Sato. 1964. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. I. Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370-2378.
- Ozawa, N. and E.P. Guengerich. 1983. Evidence for the formation of an S-(2-N7-guanyl-ethyl) glutathione adduct in glutathione-mediated binding of the carcinogen 1,2-dibromoethanol to DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **78**, 7124-7128.

22. Padron, A.G., E.G.D. De Toranzo and J.A. Castro. 1996. Depression of liver microsomal glucose 6-phosphatase activity in carbon tetrachloride-poisoned rats. Potential synergistic effects of lipid peroxidation and of covalent binding of haloalkane-derived free radicals to cellular components in the process. *J. Free Rad. Biol. Med.* **21**, 81-87.
23. Paik, T.H., J.T. Hong and S.Y. Hong. 1982. Studies on the antioxidant substances in *Panax ginseng* roots. *Korean J. Food Sci. Technol.* **14**, 130-135.
24. Rasheed, R.A., B.H. Ali and A.K. Bashir. 1995. Effect of *Teucrium stocksianum* on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. *Gen. Pharmacol.* **26**, 297-301.
25. Recknagel, R.O. and E.A. Giende. 1973. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: A example of lethal cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **2**, 263-297.
26. Recknagel, R.O. 1967. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **19**, 145-208.
27. Saraswat, B., P.K. Visen, G.K. Patnaik and B.N. Dhawan. 1997. Protective effect of picroliv, active constituent of *Picrorhiza kurrooa*, against oxytetracycline induced hepatic damage. *Indian J. Exp. Biol.* **35**, 1302-1305.
28. Suematsu, T., T. Kamada, H. Abe, S. Kikuchi and K. Yagi. 1977. Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. *Clin. Chim. Acta.* **79**, 267-770.
29. Takeda, Y., A. Ichihara, H. Tanioka and H. Inove. 1964. The biochemistry of animal cells, the effect of corticosteroids on leakage of enzyme from dispersed rat liver cell. *J. Biol. Chem.* **239**, 3590-3596.
30. William, C.H.Jr. and M. Kamin. 1962. Microsomal NADPH cytochrome c reductase of liver. *J. Biol. Chem.* **237**, 578-595.
31. Zinkle, J.G., J.G. Vos, J.A. Moore and B.N. Gupta. 1973. Hematologic and clinical chemistry effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in laboratory animals. *Environ. Health Perspectives* **9**, 111-118.
32. 허준. 1987. 동의보감. p. 449, 서울. 남산당.

(Received February 1, 2002; Accepted March 18, 2002)