

사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 오리나무 분획물의 간 보호효과

김 옥 경*

대진대학교 식품영양학과

Protective Effects of *Alnus japonica* Steude on Hepatic Injury Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Ok-Kyung Kim*

Department of Food and Nutrition, Daejin University, Po Chon, Kyung Ki Do 487-711, Korea

Abstract – This study was done to investigate the protective effect of *Alnus japonica* Steude on hepatotoxicity in carbon tetrachloride (CCl₄) intoxicated rats. *Alnus japonica* Steud was extracted with methanol and fractionated with hexane, chloroform, ethylacetate, butanol and water. Rats were treated with those orally once a day for 6 days. The activities of aminotransferase and γ -glutamyltranspeptidase and contents of cholesterol, TG and hepatic lipid peroxide in butanol fraction pretreated rats were significantly decreased compared to the only CCl₄ treated rats but the content of glutathione was significantly increased compared to the only CCl₄ treated rats. Also activities of hepatic superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in butanol fraction pretreated rats were significantly decreased compared to the only CCl₄ treated rats. These result indicated that butanol fraction of *Alnus japonica* Steude showed hepatoprotective effect in carbon tetrachloride intoxicated rats.

Key words – carbon tetrachloride, *Alnus japonica* Steude, hepatoprotective effect

최근 국민소득의 증가와 함께 평균 수명이 증가하고 있으나 불규칙한 식사, 스트레스, 영양섭취의 불균형, 식습관의 변화 또는 환경오염 등으로 성인병이 증가하고 있다. 약물과 독성 물질로 부티의 보호능력을 갖는 간장의 질병 또는 괴사를 일으키는 원인은 바이러스, 독성 약물 또는 기타 많은 인자가 있다. 특히 용제로 사용되고 있는 사염화탄소는 microsomal mixed function oxidase에 의해 생성된 trichloromethyl radical이 간막의 단백 thiol기와 결합되어 막의 지질과산화 반응 촉진과 간의 기능을 파괴하여 장애를 유발시킨다.^{1,2)} 최근에는 식물이 함유하고 있는 phytochemical 물질을 이용하여 세포의 손상이나 파괴를 유발하는 활성산소의 생성을 억제하는 작용에 대한 연구가 많이 보고 되고 있다.³⁻⁵⁾ 오리나무(*Alnus japonica* Steude)는 자작나무과(Betulaceae)의 낙엽교목으로 꽃은 3월에 피고 열매는 10월에 익으며⁶⁾ 그 수피를 赤楊이라 하고, 한방에서는 淸熱 降火 작용으로 鼻出血, 설사, 외상 출혈등에 쓰이며 민간에서

는 숙취 해소에 사용하였고^{7,8)} 그 외에 수피와 과실은 수렴 약이나 염료로 사용되어 왔다. 오리나무속 식물의 성분으로는 stilbene, flavonoid, diarylheptanoid,⁹⁻¹²⁾ triterpenoid^{13,14)}와 tannin^{15,16)} 등이 분리되었고 생리활성 연구로는 항암효과,¹⁷⁾ 항위염효과,¹⁸⁾ 항산화작용,¹⁹⁾ diarylheptanoid 화합물의 NO 생성억제 효과 및 COX-2 발현억제 효과²⁰⁾ 등이 보고되어 있다. 따라서 본 연구에서는 오리나무 methanol 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간독성 보호 효능이 있음을 확인하고 그 추출물을 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol, H₂O의 용매로 분획하여 간손상에 어떠한 영향을 주는지를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 오리나무(*Alnus japonica* Steude)는 경동시장내 한약건재상으로부터 구입하여 감정 후 사용하였으며 표본은 대진대학교 생명과학과 표본실에 (표본번호: K-001739) 보관중이다.

시약 및 기기 – 시약은 carbon tetrachloride (Janssen Co.,

*교신저자(E-mail) : okkim@daejin.ac.kr
(FAX) : 031-539-1860

Japan), olive oil (Yakuri Co., Japan) sodium azide, glutathione, glutathione reductase, NADPH, cumene hydroperoxide, 1-chloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB), xanthine, xanthine oxidase, cytochrome C, sodium deoxycholate, 1,1,3,3,-tetraethoxypropane, thiobarbituric acid, bovine serum albumin (Sigma Co., U.S.A.)을 사용하였으며, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), glutamyl transpeptidase (γ -GT), bilirubin, cholesterol, triglyceride (TG) kit는 영동제약 (Korea), lactate dehydrogenase (LDH) kit는 아산제약 (Korea)의 것을 사용하였고, 나머지 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

기기는 rotary vaccum evaporator (Eyela Co., Japan), deep freezer (Hannil Co., Korea), Centrifuge (Hannil Co., Korea), UV spectrometer (Hitachi, Japan), Homogenizer (Omni, U.S.A.), Ultracentrifuge (Beckman, U.S.A.)등을 사용하였다.

검액의 조제 - 오리나무 2,070 g을 95% methanol로 5시간씩 3회 가열 추출하고 감압·농축하여 142 g(수율 6.9%)의 추출물을 얻었다. 이를 용매에 따라 분획하여 감압·농축하여 hexane 분획물 17 g(12.0%), chloroform 분획물 24 g(16.9%), ethylacetate 분획물 43 g(30.3%), *n*-butanol 분획물 35 g(24.6%) 및 H₂O 분획물 19 g(13.4%)을 얻었다.

실험동물 및 CCl₄를 이용한 급성 독성 유발 - 체중 190~210 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 평균 체중 230±10 g인 것을 7군으로 나누어 사용하였고, 동물실 온도는 22-25°C와 명암 주기 12시간 (07:00-19:00)이 자동 조절된 동물 사육실에서 고휘사료(삼양유지 Co.) 및 물을 자유로이 섭취토록 하였다. hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 H₂O 분획물은 얻어진 수율에 따라 각각 339 mg/kg, 534 mg/kg, 978 mg/kg, 801 mg/kg, 444 mg/kg 용량으로 0.5% CMC 액에 현탁시켜 흰

쥐의 체중 kg당 10 ml씩 1일 1회 6일간 경구 투여한 후 최종 분획물 투여 6시간 후에 Rao 등의 방법²¹⁾을 보완, 수정하여 흰쥐에게 CCl₄ 0.45 mg/kg [CCl₄:Olive oil=3:2(v/v)로 1.0 mg/kg]씩 복강내 투여하여 급성 간 독성을 유발시켰다.

효소원 조제 및 분석 - 효소원 조제 및 혈청중의 ALT, AST, ALP, γ -GT 및 LDH 활성도, bilirubin, cholesterol 및 TG의 함량과 간 조직중의 지질과산화물과 GSH 함량, cytosol 분획중의 GST, SOD, catalase 및 GSH-Px의 활성도, 단백질의 함량은 전보²²⁾와 동일한 방법으로 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험 결과는 평균치와 표준오차로 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student's *t*-test를 실시하여 *p*값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

ALT 및 AST 활성도

메탄올 추출물과 분획물 투여에 의한 ALT, AST 활성도는 Table I, Table II와 같다. 이들 활성도는 정상군과 비교하여 사염화탄소를 단독으로 투여한 군에서 각각 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소에 의한 간손상시 cytochrome P-450에 의해 반응성이 높은 \cdot CCl₃가 생성되어 간세포의 장애를 일으켜 단백질 합성의 억제와 혈중으로 transaminase가 유리되어 ALT와 AST의 높은 활성치를 나타낸다는 보고^{3,23,24)}와 유사한 결과를 나타내어 간 손상이 유발됨을 알 수 있었다. 그러나 ALT 활성도는 사염화탄소 단독 투여군과 비교하여 메탄올 추출물 1,000 mg을 투여한 군에서 67%로, chloroform과 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 60%, 55%의 유의적인 감소를 나타내었고, AST 활성도는 메탄올 추출물 1,000 mg을 투여한 군에서 85%, butanol 분획물을 투여한 군에서 38%의 유의적인 감소를 나타내어 이들 분획물에 사염화탄소로 인한 간

Table I. The effects of methanol extract of *Alnus japonica* Steude on the serum ALT, AST, AIP and γ -GT activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w,p.o)	ALT	AST	AIP	γ -GT
		(KA units/l)	(KA units/l)	(KA units/l)	(mu/ml)
Normal	-	36.93±4.18 ¹⁾ (100) ²⁾	111.46±7.67(100)	26.25±2.65(100)	29.51±3.46(100)
CCl ₄ ³⁾	-	140.04±27.80 ^{###} (0)	209.93±19.83 ^{###} (0)	35.06±2.97 [#] (0)	55.80±4.73 ^{###} (0)
AJ ⁴⁾ +CCl ₄	500	80.72±23.81(58)	176.42±17.70(34)	31.06±4.46(45)	47.74±4.84(31)
AJ+CCl ₄	1000	71.26±11.24*(67)	126.60±17.44*(85)	33.19±3.68(21)	43.04±5.04(49)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{###}Significantly different from normal at *p*<0.05, *p*<0.01 by student's *t*-test. ^{*},^{**}Significantly different from CCl₄ at *p*<0.05, *p*<0.01 by Student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

⁴⁾*Alnus japonica* Steude.

Table II. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the serum ALT and AST activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	ALT	AST
		(KA unit/l)	(KA unit/l)
Normal	—	33.68±2.88 ¹⁾ (100) ²⁾	133.32±7.82(100)
CCl ₄ ³⁾	—	135.76±23.18 ^{###} (0)	221.41±6.72 ^{###} (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	84.53±12.49(50)	188.57±15.99(37)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	74.60±7.60*(60)	206.12±6.80(17)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	130.62±20.31(5)	209.36±15.65(14)
BuOH fr.+CCl ₄	801	80.06±9.4*(55)	188.29±13.09*(38)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	82.54±14.67(52)	199.72±19.22(25)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{###}Significantly different from normal at $p<0.01$ by student's *t*-test. *Significantly different from CCl₄ at $p<0.05$ by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

손상의 보호 작용을 갖는 성분을 함유하고 있음을 알 수 있었다.

ALP 및 γ -GT 활성도

메탄올 추출물과 분획물 투여에 의한 alkaline phosphatase, γ -GT의 활성도는 Table I, Table III와 같다. 정상군에 비해 사염화탄소 단독 투여군에서 각각 유의적인 증가를 나타내었다. 이들 효소는 바이러스나 독성물질에 의해 간이나 담도계의 질환이나 괴사가 일어나면 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타낸다는 보고²⁵⁻²⁷⁾와 유사하였다. 그러나 alkaline phosphatase 활성도는 사염화탄소 단독 투여군에 비해 메탄올 추출물 투여에 의한 감소를 나타내었으나 유의성은 없었고 hexane, ethylacetate, H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 176%, 151%, 179%의 유의적인 감소를 나타내었다. γ -GT 활성도는 메탄올 추출물 투여에 의한 유의적인 감소는 없었으며, ethylacetate, butanol 및 H₂O 분획물을 각각 투

여한 군에서는 150%, 136%, 81%의 유의적인 감소를 나타내어 이들 분획물이 간손상에 대한 보호효과가 있음을 알 수 있었다.

LDH 활성도 및 bilirubin 함량

분획물이 LDH 활성도 및 bilirubin 함량에 미치는 영향은 Table IV와 같다. 정상군에 비하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소 투여에 따른 간세포의 손상으로 증가되었다는 보고²⁸⁾와 유사하였다. 그러나 LDH 활성도는 butanol 분획물을 제외한 나머지 분획물을 투여한 군에서 감소를 나타내었으나 유의성은 없었고, bilirubin 함량은 분획물 투여에 의한 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다.

Cholesterol 및 TG 함량

분획물 투여에 의한 cholesterol과 TG 함량은 Table V와

Table III. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the serum AIP and γ -GT activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	AIP	γ -GT
		(KA unit/ml)	(mu/ml)
Normal	—	28.91±1.1 ¹⁾ (100) ²⁾	29.82±1.99(100)
CCl ₄ ³⁾	—	37.05±2.90 [#] (0)	44.05±3.71 [#] (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	22.75±1.83 ^{**} (176)	36.82±3.54(51)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	34.01±4.25(37)	33.86±3.93(72)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	24.79±2.30*(151)	22.73±0.49 ^{**} (150)
BuOH fr.+CCl ₄	801	29.94±3.58(87)	24.67±1.95 ^{**} (136)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	22.49±1.49 ^{**} (179)	32.53±2.74*(81)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). [#]Significantly different from normal at $p<0.05$ by student's *t*-test. *,**Significantly different from CCl₄ at $p<0.05$, $p<0.01$ by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

Table IV. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the serum LDH activity and bilirubin content in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	LDH	Bilirubin
		(wroblewski unit/ml)	(mg/ml)
Normal	–	2301.25±386.42 ¹⁾ (100) ²⁾	0.42±0.14(100)
CCl ₄ ³⁾	–	3440.63±318.84 [#] (0)	3.50±0.54 [#] (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	3137.76±271.94(27)	3.16±1.31(11)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	3175.10±260.08(23)	3.29±0.60(7)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	3127.05±412.09(28)	3.44±0.61(2)
BuOH fr.+CCl ₄	801	3518.98±385.35(-)	3.31±0.45(6)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	3164.54±237.03(24)	2.99±0.69(17)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7). [#]Significantly different from normal at $p<0.05$ by student's *t*-test.

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as $100 \times (\text{value of CCl}_4\text{-value of sample}) / (\text{value of CCl}_4\text{-value of normal})$.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

Table V. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the serum cholesterol and TG contents in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Cholesterol	TG
		(mg/dl)	(mg/dl)
Normal	–	85.08±6.43 ¹⁾ (100) ²⁾	83.67±9.96(100)
CCl ₄ ³⁾	–	107.43±7.35 [#] (0)	115.38±9.65 [#] (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	94.19±5.88(59)	116.31±15.94(-)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	95.07±5.96(55)	69.33±4.75 ^{**} (145)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	97.98±9.52(42)	50.90±8.77 ^{**} (203)
BuOH fr.+CCl ₄	801	80.46±3.76 [*] (121)	44.65±5.20 ^{**} (223)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	96.43±6.89(49)	61.74±5.92 ^{**} (169)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as $100 \times (\text{value of CCl}_4\text{-value of sample}) / (\text{value of CCl}_4\text{-value of normal})$. [#]Significantly different from normal at $p<0.05$ by student's *t*-test. *,**Significantly different from CCl₄ at $p<0.05$, $p<0.01$ by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

같다. 관상동맥이나 췌장질환 특히 지질대사와 지방간의 중요 지표중의 하나인 이들 물질은 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 cholesterol 함량은 butanol을 투여한 군에서 121%의 유의적인 감소를, TG 함량은 chloroform, ethylacetate, butanol 및 H₂O 분획물을 투여한 군에서 각각 145%, 203%, 223%, 169%로 정상군보다 더 낮은 수치를 나타내어 유의적인 감소를 나타내었다. 따라서 이 분획물들이 사염화탄소 투여에 의한 간손상이 억제된 결과 정상적인 지질대사가 이루어진 것으로 사료된다.

간 조직 중의 과산화 지질 및 glutathione 함량

분획물의 간 조직 중의 과산화 지질과 glutathione 함량은 Table VI와 같다. 과산화 지질 함량은 사염화탄소 단독 투여군이 정상군과 비교하여 유의적인 증가를 나타내었다. 이

는 사염화탄소와 같은 xenobiotics의 대사 또는 내적인 요인 (oxygen free radical generating system)에 의해 생성된 oxygen free radical이 관여된 결과 증가되었다는 보고^{29,30)}와 유사한 결과를 나타내었으나 butanol과 H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 65%와 81%로 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 사염화탄소로 유도된 free radical을 소거함으로써 조직중의 지질과산화물의 함량이 저하된 것으로 사료된다. Glutathione 함량은 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었으나 butanol 분획물을 투여한 군에서 51%로 유의적인 증가를 나타내었다. glutathione은 비효소계 물질로써 생체내에서 친전자성 물질, hydroxyl radical과 같은 물질의 강력한 소거제이며 또한 GSH-Px의 기질로 알려져있다.³¹⁾ 본실험 결과 butanol 분획물이 oxidative stress의 감소 결과 glutathione의 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 것으로 사료된다.

Table VI. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the hepatic lipid peroxide and glutathione contents in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w.p.o)	Lipid peroxide	Glutathione
		(MDA nmoles/g of tissue)	(moles/g of tissue)
Normal	-	2.76±0.53 ¹⁾ (100) ²⁾	5.21±0.79(100)
CCl ₄ ³⁾	-	5.30±0.64 [#] (0)	3.07±0.16 [#] (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	3.66±0.65(65)	2.72±0.42(-)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	4.71±0.72(23)	3.17±0.73(5)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	4.48±0.42(32)	3.46±0.18(18)
BuOH fr.+CCl ₄	801	3.64±0.39*(65)	4.16±0.43*(51)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	3.25±0.36*(81)	3.56±0.30(23)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). [#]Significantly different from normal at p<0.05 by student's t-test. *Significantly different from CCl₄ at p<0.05 by student's t-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

Table VII. The effects of various fractions of *Alnus japonica* Steude on the hepatic cytosolic GST, SOD, Catalase and GSH-Px activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w.p.o)	GST	SOD	Catalase	GSH-Px
		(nmoles/mg protein/min)	(Unit/mg protein)	(moles/mg protein/min)	(nmoles NADPH/mg protein/min)
Normal	-	351.67±34.94 ¹⁾ (100) ²⁾	94.52±4.00(100)	925.44±143.81(100)	1.66±0.12(100)
CCl ₄ ³⁾	-	247.59±31.74 [#] (0)	179.67±14.39 ^{###} (0)	1826.94±225.08 ^{###} (0)	2.73±0.23 [#] (0)
Hexane fr.+CCl ₄	339	315.68±29.39(65)	156.68±9.56(27)	1444.07±319.45(42)	2.22±0.14(48)
CHCl ₃ fr.+CCl ₄	534	330.45±27.34(80)	168.93±15.41(13)	1345.50±230.32(53)	2.47±0.30(24)
EtOAc fr.+CCl ₄	978	325.30±40.23(75)	165.18±12.10(17)	1053.85±144.73*(86)	2.11±0.13*(62)
BuOH fr.+CCl ₄	801	306.23±38.87(56)	111.81±12.76**(80)	977.11±204.86*(94)	1.76±0.32*(91)
H ₂ O fr.+CCl ₄	444	269.37±21.34(21)	114.42±16.55*(77)	924.67±85.73**(100)	2.28±0.50(42)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7).

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{###}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by student's t-test. *,**Significantly different from CCl₄ at p<0.05, p<0.01 by student's t-test.

³⁾CCl₄ 0.45 mg/kg, b.w. [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

간 조직 중의 GST, SOD, catalase 및 GSH-Px의 활성도

분획물 투여에 의한 위의 항산화 효소들의 활성 변화는 Table VII과 같다. GST는 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었고, 분획물을 투여한 모든 군에서 증가를 보였으나 유의성은 없었다. 이는 GST가 microsome에서 약물대사 효소와 함께 유도되는 성질을 갖으므로^{32,33)} 사염화탄소와 같은 유독물질을 무독화시키기 위해 기질성 유도작용의 하나로 증가된 것으로 사료된다. SOD는 superoxide anion radical을 반응성이 약한 H₂O₂로 전환시켜 세포의 산화적 손상에 대한 방어 작용에 관여 한다는 보고³⁴⁾에 따라 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 butanol과

H₂O 분획물을 투여한 군에서 각각 80%, 77%의 유의적인 감소를 나타내어 이들 분획물이 조직세포의 손상을 초래하는 superoxide radical의 생성을 억제시킨 결과로 사료된다. Catalase는 SOD가 일차적으로 superoxide anion radical을 H₂O₂로 전환시켜 H₂O나 O₂로 분해시키는 효소³⁵⁾로써, 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 ethylacetate, butanol, H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 86%, 94%, 100%의 유의적인 감소를 나타내었다. 이것은 분획물이 사염화탄소 투여에 의한 free radical의 생성을 억제시킨 결과로 생각된다. 한편, GSH-Px는 selenium을 갖은 항산화제의 하나로 체내에 존재하는 glutathione을 기질로 하여 과산화지질과 H₂O₂을 분해함으로써 조직의 손상을 방지하는 효소³⁶⁾로 정상군과 비교하여

사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소 투여에 의해 생성된 H_2O_2 를 분해하기 위하여 증가된 결과로 생각된다. 그러나 ethylacetate와 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 62%, 91%의 유의적인 감소를 나타내었다. 이상의 결과에서 이들 분획물들이 생체내 free radical의 생성을 억제한 결과 SOD, catalase 및 GSH-Px의 활성도를 감소시킨 결과로 사료된다.

결 론

오리나무 메탄올 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간 독성 보호 효능이 있음을 확인하고 그 추출물을 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 H_2O 의 용매로 분획하여 혈청 및 간조직의 항산화 효소 활성에 대한 실험 결과는 다음과 같았다.

1. 사염화탄소 투여로 증가된 ALT, AST, AIP 및 γ -GT 활성치가 메탄올 추출물 투여로 저하되었으며, 특히 1,000 mg/kg의 용량으로 투여한 군에서 간기능의 지표가 되는 ALT, AST 활성치의 유의적인 감소를 나타내었다.

2. butanol 분획물이 혈청중의 높아진 ALT, AST 및 γ -GT의 활성치 저하와 cholesterol과 TG 함량의 유의적인 감소를 나타내었으며, 간조직중의 과산화지질 함량 저하와 GSH 함량의 유의적인 증가를 나타내었다. 또한, SOD, Catalase, GSH-Px 등의 항산화효소 활성도 유의적인 감소를 나타내었다.

따라서 본 실험결과 오리나무 메탄올 추출물의 butanol 분획물이 사염화탄소와 같은 xenobiotics 투여에 의해 생성되는 free radical scavenging 작용을 하는 물질을 함유하는 것으로 추정되며 이 분획물의 물질 분리와 반응 기전에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 2003학년도 대전대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구의 결과이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Recknagel, R. O. (1976) Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **19**: 145-164.
- Butler, T. C. (1990) Reduction of carbon tetrachloride in vivo and reduction of carbon tetrachloride and chloroform in vitro by tissues and constituents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **143**: 311-319.
- Borek, C. (2001) Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition* **131**: 1010s-1025s.
- Middleton, E. (1996) Biological properties of plant flavonoids an overview. *Int. J. Pharmacognosy* **34**: 344-348.
- Kuresh, A. Y. and James, A. J. (2001) A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: A multiplicity of effects. *Free Radical Biology and Medicine* **30**: 583-594.
- Lee, Y. N. (1998) Flora of Korea. p. 64. *Kyo Hak Publishing Co.*, Seoul.
- Jungyakdesajon (1985) Sohakkyan. p. 413-415. Sanghae Science pub.
- Lee, S. J. (1966) Korea Folk Medicine. p40. *Seoul National University Publishing Center* Seoul.
- Asakawa, Y. (1971) Chemical constituents of *Alnus sieboldiana* (Betula ceae) II. The isolation and structure of flavonoids and stibenenes. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **44**: 2761-2767.
- Lee, M. W., Jeong, D. W., Lee, Y. A., Park, M. S. and Toh, S. H. (1999) Flavonoids from the leaves of *Alnus hirsuta*. *Yakhak Hoeji* **43**: 547-552.
- Tori, M., Hashimoto, A., Hirose, K. and Asakawa, Y. (1995) Diarylhep tanoids, flavonoids, stilbenoids, sesquiterpenoids and a phenanthrene from *Alnus maximowiczii*. *Phytochem.* **40**: 1263-1269.
- Lee, M. W., Kim, K. H., Park, M. S., Jeong, D. W. and Toh, S. H. (2000) Diarylheptanoids from the leaves of *Alnus hirsuta* Turcz. *Arch. Pharm. Res.* **23**: 50-53.
- Hirata, T., Murai, K., Ideo, R. and Suga, T. (1976) Triterpenoids in the male flower of *Alnus serrulatooides*. prosymp. *Chem. Nat. Prod.* **3**: 273-279.
- Hirata, T., Ideo, R. and Suga, T. (1977) Structure of alnuselide, the first reported naturally occurring C-31 secodammarane type triterpene lactone from *Alnus serrulatooides*. *Chem. Lett.* **8**: 711-719.
- Khvorst, O. P., Serbin, A. G., Komissarenko, N. F. and Goldienko, V. G. (1989) Ellagitannins derived from *Alnus glutinosa*(L). *Khim Farm Zh.* **23**: 45-51.
- Lee, M.W., Tanaka, T., Nonaka, G. I. and Nishioka, I. (1992) Dimeric ellagitannins from *Alnus japonica*. *Phytochem.* **31**: 2835-2842.
- Sheth, K., Bianchi, E., Wiedhopf, R. and Cole, J. R. (1973) Antitumor agents from *Alnus oregona*. *J. Pharm. Sci.* **62**: 137-142.
- Chung, C. S., Woo, B. H., Lee, E. B. and Jung, K. H. (1996) The effect of *Alnus japonica* Cortex extract on gastric lesion and ulcer of rats. *J. Applied Pharmacology* **1**: 84-88.
- Lee, Y. A., Kim, K. H., Kim, J. S., Cho, S. M., Kim, S. W. and Lee, M. W. (2000) Antioxidative effects of diarylheptanoids from *Alnus hirsuta*. *Yakhak Hoeji* **44**: 193-196.
- Lee, M. W., Kim, J. H., Jeong, D. W., Ahn, K. H. Toh, S. H. and Surh, Y. J. (2000) Inhibition of cyclooxygenase-2

- expression by diarylheptanoids from the bark of *Alnus hirsuta* Var. *sibirica*. *Biol. Pharm. Bull.* **23**: 517-518.
21. Rao, V. C. and Nehendale, H. M. (1991) Colchicine antimiosis abolishes CCl_4 autoprotection. *Toxicol. Pathol.* **19**: 597-606.
 22. Kim, O. K. (2000) Protective effects of *Houttuynia cordata* Thunb on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**: 324-331.
 23. McCay, P.B., Lai, E. K., Poyer, J.L., Dubose, C. M. and Janzen, E. G (1984) Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.* **259**: 2135-2139.
 24. Groot, H. and Noll, T. (1986) The crucial role of oxygen partial pressures in haloalkane free radical mediated lipid peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* **35**: 15-19.
 25. Kim, T. H. and Park, J. Y. (1997) Effect of *Cyperus rhizoma* on CCl_4 induced hepatotoxicity and lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.* **28**: 185-191.
 26. Kang, C. H., Kim, D. H., Ryu, S. Y. and Kim, S. H. (2000) Study on hepatoprotective and antioxidant activities of korean red ginseng mixed formula. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**: 383-389.
 27. Ha, T. Y., Cho, I. J. and Lee, H. Y. (2001) Effect of *Cassia tora* ethanol extracts on carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**: 789-794.
 28. Kim, S. Y., Lee, H. S., Ryu, K. S., Lee, E. J. and Kim, Y. C. (1999) Protective effects of extracts of *Mori cortex Radicis* on carbon tetrachloride induced hepatotoxicity. *Yakhak Hoeji.* **43**: 391-396.
 29. Han, E. G. and Cho, S. Y. (1997) Effect of *codonopsis lanceolata* water extract on the activities of antioxidative enzymes in carbon tetrachloride treated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**: 1181-1186.
 30. Recknagel, R. O., Glende, E. A. and Hruszkewycz, A. M. (1997) Chemical mechanism in carbon tetrachloride toxicity. In free radicals in biology. Prayor, W. A (ed), Academic Press, New York, p. 97-115.
 31. Burkitt, M. J. and Duncan, J. (2000) Effects of trans resveratrol on copper dependent hydroxyl radical formation and DNA damage: evidence for hydroxyl radical scavenging and a novel, glutathione sparing mechanism of action. *Archives of Biochem. Stry. and Biophysics* **381**: 253-263.
 32. Friedberg, T., Bentley, P., Stasiecki, P., Glatt, H. R., Raphael, D. and Oesch, F. (1979) The identification, solubilization and characterization of microsome associated glutathione-s-transferase. *J. Biol. Chem.* **254**: 12028-12034.
 33. Prohaska, J. P. and Ganther, H. E. (1977) Glutathione peroxidase activities of glutathione-s-transferase purified from rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **76**: 487-492.
 34. Mates, J. M., Perez, C. and Castro, I. (1999) Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* **32**: 595-603.
 35. Deisseroth, A. and Dounce, A. L. (1970) Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol. Rev.* **50**: 3-24.
 36. Aykac, G. (1985) The effects of chronic ethanol indigestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicol.* **35**: 71-79.

(2003년 6월 2일 접수)