

越鞠丸 물 추출물이 Acetaminophen으로 유도된 마우스의 급성 간손상에 미치는 효과

이채중, 박선동¹, 문진영²

동국대학교 한의과대학 내과학교실, ¹방제학교실, ²경혈학교실

Abstract

Effects of *Wolguk-whan* Water Extract on Acute Oxidative Liver Injury Induced by Acetaminophen

Chaejung Lee, Sundong Park¹, Jinyoung Moon²

Dept. of Internal Medicine, ¹Dept. of Oriental Medical Prescription,

²Dept. of AM-Pointology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objectives : *Wolguk-whan* has been used as a prescription of natural drug for the treatment of stress digestive system disease. Recently, we reported that *Wolguk-whan methol extract* (WGWM) exerted a significant protective effect against oxidative damage to the liver of ICR mice. This study was purposed to investigate the effects of *Wolguk-whan water extract* (WGWW) on liver injury induced by oxidative stress.

Methods : In order to investigate the effects of WGWW on acute liver injury, ICR mice were pretreated with WGWW for 6days, starved for 24hrs, and administered

교신저자 : 문진영

경상북도 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 경혈학교실

Tel : 054) 770-2665 Fax : 054) 770-2649

E-mail : ampmoon@mail.dongguk.ac.kr

접수 : 2003/10/5 수정 : 2003/10/24 채택 : 2003/10/31

acetaminophen(500mg/kg, *i.p.*). In the liver homogenates, lipid peroxide and glutathione (GSH) levels were measured. In addition, activities of hepatic enzyme, such as catalase, glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione S-transferase(GST) were measured in the hepatic mitochondrial and cytosolic fractions.

Results : *In vivo* administration of WGWW showed effective inhibition of acetaminophen induced lipid peroxidation, and showed elevations of GSH level, catalase, GSH-Px, GST activities.

Conclusions : These results suggested that WGWW might suppress the formation of oxidative metabolites, and prevent acetaminophen induced hepatotoxicity.

Key Word : *Wolguk-whan*, glutathione, oxidative stress

I. 서 론

월국환(越鞠丸)은 丹溪心法에 수록된 처방으로 解諸鬱의 효능이 있어 肝脾鬱結로 인한 스트레스성의 소화기능 장애인 胸膈痞滿, 脘腹脹痛, 噯腐吞酸, 惡心嘔吐, 飲食不消 등의 병증 치료에 주로 사용되는 것으로 알려져 있다¹⁻⁴. 월국환에 대한 실험적 연구로는 스트레스⁵, 비만 생쥐의 난소와 임신⁶ 및 위궤양⁷ 등에 대한 효과가 보고된 바 있으나, 본 약물의 간장 보호 효과에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 저자 등은 월국환이 임상에서 肝脾鬱結로 인한 스트레스성의 소화기 병증 치료에 다용되는 처방임에도 불구하고, 스트레스성 위장 병증 치료에 대한 유효성 측면에서 접근한 연구 보고가 있을 뿐, 간세포의 손상에는 어떠한 영향을 미치는가에 대한 실험적 연구가 이루어지지 않고 있음에 착안하여, 월국환 메탄을 추출물을 검액으로 산화적 스트레스에 의한 간세포 손상에 대한 효과를 검토한 결과, 본 약물이 현저한 간세포 보호 효능을 나타냄을 최근 보

고한 바 있다⁸. 이에 본 연구는 월국환의 간세포 보호 효능에 대하여 보다 다각적으로 규명하기 위하여 월국환 물 추출물에서는 어떤 효능을 나타내는가를 검토하기 위하여 시도되었다. 아세트아미노펜은 적정용량의 투여시에는 생체에 심각한 부작용을 일으키지 않으나, 과량 투여(500mg/kg)하면 복합약물 대사제인 cytochrome P-450의 효소 반응을 거쳐, 다량의 활성대사체가 생성되어 급성 산화적 간손상이 초래되는 것으로 알려져 있는데, 특히 이 과정에는 활성대사체에 의한 glutathione의 고갈과 이로 인한 세포막의 지질과산화 반응이 수반된다⁹⁻¹². 따라서 본 연구에서는 월국환이 급성 산화적 스트레스에 의한 간세포 손상에 대한 보호 효과를 규명하기 위하여, 마우스에 월국환 물 추출물을 일정기간 전 처리한 다음, 간세포의 산화적 손상 유발제로 아세트아미노펜을 복강 투여하였다. 또한 월국환의 간세포 손상 보호 효과를 검토하기 위한 직접적인 지표로 간조직내 지질과산화물의 함량과 glutathione 함량의 변화를 관찰하였다. 그리고 월국환 물 추출물이 아세트아미노펜에 의한 급성 산화적 간손상에 대한 보다

심도있는 기전을 검토하기 위하여 catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase와 같은 항산화 효소계의 활성 변화를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 약재

본 실험에 검액으로 사용된 월국환(Wolguk-whan)은 丹溪心法에 수록된 처방 내용에 의해 각각 동일 중량의 蒼朮, 香附子, 川芎, 神麩, 梔子로 구성하였으며, 약재는 모두 동국대학교 부속한방병원(경북, 경주)에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

2. 실험 동물

아세트아미노펜에 의한 산화적 간손상에 대한 월국환 물 추출물의 효과를 관찰하기 위한 실험에서 사용된 실험 동물은 생후 6주령의 수컷 ICR계 마우스(체중 25~30g)로 대한 동물 실험 센터(충북, 음성)에서 분양 받아 일정한 조건으로 본 대학 사육실의 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

3. 시약

본 실험에 사용된 시약으로서 acetaminophen, 2-thiobarbituric acid(TBA), lauryl sulfate sodium(SDS), hydrogen peroxide(H₂O₂), glutathione(GSH), sulfamic acid ammonium, sulfanilamide, N-1-naphthyl ethylenediamine, 5,5-dithio

bis-2-nitrobenzoic acid(DTNB), ethylene diamine tetra acetic acid(EDTA), glutathione reductase (GSSG-reductase), reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate tetrasodium salt(NADPH), chlorodinitro-benzene(CDNB), bichinchonic acid(BCA) protein assay kit는 Sigma사(Sigma Chem. Co. St. Louis, MO)로부터, 그리고 malondialdehyde tetrabutylammonium salt(MDA)는 Fluka사(Fluka Chemie AG, Switzerland)로부터, NaN₃는 Aldrich사(Aldrich Chem. Co. Milwaukee, WI)로부터, trichloroacetic acid(TCA)는 Janssen Chimica(Belgium)로부터 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 모두 특급 시약을 사용하였다.

4. 검액의 제조

월국환 물 추출물(Wolguk-whan water extract : WGWW)을 제조하기 위해 월국환 구성 약재를 각각 30g으로 하여 총량 150g을 취해 세절하여 냉각 환류관이 부착된 원저 플라스크에 넣고, 3배량의 증류수를 가한 다음, 3시간 동안 추출하고 여과하였다. 여액은 rotary evaporator로 감압 농축한 다음, 동결건조기 중에서 건조하여 분말상의 월국환 물 추출물 26.83g(수율 17.89%)을 얻었으며 이를 시료로 사용하였다. 본 실험에 사용한 추출용매인 물은 이온교환수지를 통과시킨 증류수를 사용하였고 월국환 물 추출물의 증거 표본은 동국대학교 한의과대학 내과학교실에서 보관 중이다.

5. 실험동물 및 실험군의 분류

ICR 마우스 7마리를 한 군으로하여, 아

무런 처치도 하지 않은 정상군(Normal), acetaminophen만을 복강 투여한 대조군(Control), 그리고 월국환 물 추출액을 6일간 경구로 투여한 다음 acetaminophen을 복강 투여한 월국환 투여군(WGWW)으로 나누어서 실험을 행하였다. 그리고 월국환 투여군(WGWW)은 다시 월국환의 투여 용량에 따라 500mg/kg 용량으로 전처치한 실험군(WGWW-500)과 250mg/kg 용량으로 전처치한 실험군(WGWW-250), 그리고 100mg/kg 용량으로 전처치한 실험군(WGWW-100)으로 분류하여 실험을 행하였다.

6. 검액 투여 및 간세포의 산화적 손상 유발

월국환 물 추출물은 6일간 경구로 처치하였으며, 간세포의 산화적 손상을 보다 효과적으로 유발시키기 위하여 월국환 투여가 완료된 시점으로부터 마우스를 24시간 절식시킨 다음, acetaminophen(500mg/kg)을 DMSO에 현탁시켜서 복강 주사(2.5ml/kg) 하였다.

7. 간조직 균질액과 분획의 조제

마우스에 아세트아미노펜의 복강 투여가 완료된 시점으로부터 다시 24시간 후에 마우스를 마취하고, 복피를 절개하여 간을 적출하였다. 적출한 간은 KCl 완충용액에 여러 번 세척하여 혈액을 제거하고, 다시 흡습지로 수분을 완전 제거한 다음, 빙냉 상태에서 KCl 완충용액과 혼합하여 조직 균질기를 사용해 10%(w/v) 마쇄액을 만들었다. 이 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 일정량 수거하여 이를 간조직 균질액으로 하여 지질과산화물,

total SH 및 glutathione 함량 측정에 사용하였다. 나머지 상층액을 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리하고 침전물을 KCl 용액에 재현탁하여 이 분획을 catalase 및 glutathione peroxidase 효소 활성 측정에 사용하였다. 상층액은 다시 105,000×g에서 1시간 동안 원심분리하여 상층액을 glutathione S-transferase 효소 활성 측정에 사용하였다. 이상의 모든 과정은 0~4°C에서 행하였으며, 각 분획은 일정량씩 나누어 실험에 사용할 때까지 -70°C에서 냉동보관하였다.

8. 지질과산화물 함량 측정

간조직 균질액에서의 지질과산화물 함량은 TBA법¹³⁾으로 측정하였다. 먼저 위에서 분리한 간조직 균질액에 8.1% SDS 0.2ml, 20% acetic acid 용액(pH 3.5) 1.5ml, 0.8% TBA 1.5ml, 증류수 0.6ml를 가한 다음, 95°C 항온수조에서 60분 동안 가열한 후, 실온에서 냉각시키고, 증류수 1.0ml와 n-butanol : pyridine (15:1, v/v)의 혼합액 5.0ml를 첨가하여 격렬하게 혼합하였다. 이 혼합액을 4,000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 TBA 반응물질이 존재하는 n-butanol층을 분리하여 파장 532nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화지질의 함량은 MDA로 검량표준곡선을 작성한 다음, 이에 의거한 측정치를 MDA 농도로 표기하였다.

9. Total SH 함량 측정

Total SH의 함량은 Sedlak의 방법¹⁴⁾에 따라서 측정하였다. 먼저 0.2M Tris buffer(pH 8.2) 1ml, 0.01M DTNB 0.1ml, methanol 4ml를 가한 후, 이 혼합액에

10% 간세포 균질액 0.1ml를 취하여 24°C에서 15분간 방치하였다. 이것을 600×g에서 30분간 원심분리한 후, 상층액을 412nm에서 흡광도를 측정하여 전체 SH 농도를 millimole 흡광계수 $13\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ 을 사용하여 그 양을 계산하였다.

10. Glutathione 함량 측정

Glutathione(GSH)의 함량은 Higach의 방법¹⁵⁾에 의하여 측정하였다. 먼저 10% 간세포 균질액에 동량의 10% TCA 용액을 가하여 3,000rpm에서 20분간 원심분리한 상층액을 시료로 하였다. 시료 0.1ml에 0.01M NaNO_2 과 0.2N H_2SO_4 를 혼합조제(1:9, v/v)하여 0.5ml를 가한 다음에 5분간 방치시켰다. 0.5% sulfamic acid ammonium 수용액 0.2ml를 가하여 강하게 혼합한 후 1% HgCl_2 와 3.4% sulfanilamide/0.4N HCl 혼합액(1:9, v/v)을 1ml를 가하고 0.1% N-1-naphthyl ethylenediamine(0.4N HCl 용액)을 1ml 가한 다음, 5분이 경과한 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편 표준용액으로서 125nM GSH 용액을 사용하였다.

11. Catalase 활성 측정

Catalase 활성도는 Aebi의 방법¹⁶⁾에 준하여 측정하였다. 먼저 50mM phosphate 완충용액(pH 7.4)으로 희석시킨 catalase 활성 측정용 간조직 분획 부유액 2.0ml에 30mM의 H_2O_2 용액 1.0ml를 첨가하여 240nm에서 H_2O_2 분해에 따른 흡광도의 감소로 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안 분해된 $1\mu\text{mole}$ 의 H_2O_2 를 1 unit로 정의하였고 단백질 1mg을 기준으로 표기하였다.

12. Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도는 Paglia와 Lawrence의 방법¹⁷⁻¹⁸⁾에 준하여 측정하였다. 먼저 50mM potassium phosphate 완충용액 (pH 7.0) 50ml에 EDTA 1mM, NaN_3 1mM, NADPH 0.2mM, GSH 1mM, 그리고 GSSG-reductase는 1E.U./ml를 혼합한 최대농도 반응 혼합물을 이용하여 측정하였다. 반응 혼합물 0.8ml에 50mM potassium phosphate 완충용액 (pH 7.0)으로 희석시킨 GSH-Px 측정용 간조직 분획 부유액 0.1ml를 넣어 20°C 항온수조에서 5분간 가온한 후 2.2mM H_2O_2 용액 0.1ml를 첨가하여 340nm에서의 NADPH 흡광도 감소로 측정하였다. 효소의 활성도는 단백질 mg당 1분 동안 산화되는 NADPH nmole로 표기하였다.

13. Glutathione S-transferase 활성 측정

Glutathione S-transferase(GST) 활성도는 chlorodinitrobenzene (CDNB)과 GSH를 기질로 사용한 Habig의 방법¹⁹⁾으로 측정하였다. 0.1M potassium phosphate 완충용액(pH 6.5)으로 희석시킨 GST 측정용 간조직 분획 부유액에 1mM GSH, 1mM CDNB를 첨가하여 파장 340nm에서 단백질 mg당 1분간 conjugated되는 CDNB의 nmol로 표기하였다.

14. 단백질 정량

간조직 균질액과 각 분획에서의 단백질 정량은 모두 BCA protein assay kit를 이용하여 bovine serum albumin을 표준단백질 용액으로 이용한 표준검량선을 구하고

그 양을 산출하였다²⁰⁾.

15. 통계 처리

본 실험에서 얻은 실험군간의 결과에 대하여 Student's *t*-test를 실시하여 유의성 여부를 검증하였고, 그 결과 *p*값이 0.05 이하인 경우에 유의성을 인정하였다.

Ⅲ. 실험 결과

1. 지질과산화물 함량

Fig. 1에는 간조직 균질액에서의 지질과산화물의 함량을 측정된 결과를 1mg protein당 MDA nmol로 표기하였다. 그 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군의 지질과산화물의 함량은 3.48nmol이었으나, 아세트아미노펜을 단독 투여한 대조군에서는 10.99nmol로 정상군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있는 증가를 보였다. 이 결과에서 아세트아미노펜의 투여로 인해 마우스에 급성 산화적 간손상이 유발되었음을 알 수 있었다. 반면 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 실험군에서의 지질과산화물의 함량은 각각 4.29, 5.54, 5.68nmol로 대조군에 비해 모두 유의성 있는 감소($p < 0.01$)를 보였다. 따라서 월국환 물 추출물의 전처치로 인해 아세트아미노펜에 의한 마우스의 급성 산화적 간손상이 현저하게 억제됨을 알 수 있었다(Fig. 1).

2. Total SH 함량

마우스 간조직 균질액에서 total SH의 함량 변화를 관찰한 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군에서는 168.38nmol이었으

나, 아세트아미노펜을 단독 투여한 대조군에서는 89.88nmol로 정상군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소를 보였다. 한편 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 다음, 아세트아미노펜을 투여한 실험군에서의 total SH의 함량은 각각 148.60nmol($p < 0.05$), 114.52nmol, 233.14nmol ($p < 0.01$)로 모두 대조군에 비해 증가하였다(Fig. 2).

3. GSH 함량

마우스 간조직 균질액에서 GSH의 함량 변화를 관찰한 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군에서는 28.00nmol이었으나, 아세트아미노펜을 단독 투여한 대조군에서는 18.86nmol로 정상군에 비해 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소를 보였다. 한편 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 다음, 아세트아미노펜을 투여한 실험군에서의 GSH 함량은 각각 28.23nmol($p < 0.02$), 30.57nmol($p < 0.01$), 25.71nmol($p < 0.05$)로 모두 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다(Fig. 3).

4. Catalase 활성

Fig. 4에는 catalase 활성 변화를 관찰한 결과를 protein 1mg당 unit로 표기하였다. 그 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군에서의 catalase 활성은 8.53unit이었으나, 아세트아미노펜을 단독 투여한 대조군에서는 5.77unit로 정상군에 비해 감소하였다. 반면 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 다음, 아세트아미노펜을 투여한 실험군에서의 catalase 활성은 각각 10.80unit ($p < 0.05$), 7.95unit, 6.86unit로 모두 대조군에 비해

증가하였다(Fig. 4).

5. GSH-Px 활성

Fig. 5에는 GSH-Px 활성 변화를 측정하여 그 결과를 protein 1mg당 unit로 표기하였다. 그 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군에서의 GSH-Px 활성은 7.05unit이었으나, 아세트아미노펜을 투여한 대조군에서는 4.71unit로 정상군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있는 감소를 보였다. 반면 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 실험군에서의 GSH-Px 활성은 각각 6.53, 5.70, 5.86unit로 모두 대조군에 비해 증가하였으나 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 5).

6. GST 활성

Fig. 6에는 GST 활성 변화를 관찰하여 그 결과를 protein 1mg당 unit로 표기하였다. 그 결과, 아무런 처치도 하지 않은 정상군에서의 GST 활성은 2.24unit이었으나, 아세트아미노펜을 투여한 대조군에서는 1.54unit로 정상군에 비해 감소하였다. 반면 월국환 물 추출물을 500, 250, 100mg/kg의 용량으로 전처치한 실험군에서의 GST 활성은 각각 2.29, 3.64, 3.39unit로 모두 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다(Fig. 6).

IV. 고 찰

월국환은 궁출환(芎朮丸)이라 하고, 解諸鬱의 효능이 있어 모든 鬱症 치료에 주로 사용되는데, 월국환의 구성 약물 중 香附子是 氣鬱, 蒼朮은 濕鬱, 梔子是 熱鬱, 川芎은 血鬱, 神麩은 食鬱의 치료에 작용

한다. 본 처방은 한방 임상에서 肝脾鬱結로 인한 스트레스성 소화기능 장애의 치료에 다용되고 있으나, 지금까지 보고된 연구 내용은 주로 항스트레스 효과, 비만과 임신에 대한 효과 및 위궤양에 미치는 영향 등에 국한되어 있고, 스트레스성 간질환에 대한 효능 검토는 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 저자 등은 이러한 점에 착안하여 아세트아미노펜으로 유도된 산화적 스트레스에 의한 간세포의 손상에 대한 월국환의 효과를 검토하였다. 그 결과, 최근 월국환 매탄을 추출물이 간세포의 산화적 손상을 유의성있게 억제함을 보고한 바 있으며, 이를 토대로 본 연구에서는 월국환의 간세포 보호 효과를 보다 심도있게 규명하기 위한 일환으로 월국환 물 추출물을 대상으로 급성 산화적 간손상에 대한 영향을 검토하였다. 본 연구에서 마우스에 급성 산화적 스트레스에 의한 간세포의 손상을 유발시킬 목적으로 사용된 아세트아미노펜은 간손상 유발의 모델 약물로 널리 사용되어 왔으며, 본 약물을 500mg/kg의 용량으로 대량 투여하면 복합 약물 대사계를 거치는 과정에서 활성산소인 superoxide anion radical, hydrogen peroxide가 생성되어 세포막의 지질과산화 반응에 의한 세포막의 파괴가 초래된다. 따라서 아세트아미노펜에 의한 산화적 간세포 손상의 정도는 과산화지질의 함량과 비례한다고 볼 수 있다. 또한 이 과정에는 활성산소와 더불어 대사활성체가 생성되어 세포내의 거대분자와 결합함으로써 세포의 손상이 일어나는데, 이러한 대사활성체는 주로 세포내 GST의 매개로 GSH와 결합한 형태로 배설되어진다. 따라서 대사활성체에 의한 손상을 억제함에 있어서 GST

의 활성과 GSH의 함량은 중요한 의의를 지닌다고 볼 수 있다. 그리고 지질과산화 반응을 유발하는 superoxide anion radical은 superoxide dismutase(SOD)에 의해 hydrogen peroxide로(H_2O_2) 변환되며, hydrogen peroxide는 catalase에 의해 물(H_2O)로 변하거나, GSH-Px와 GSH의 공동 작용에 의해 물로 변하게 된다. 그러므로 아세트아미노펜에 의한 산화적 간세포의 손상 과정에는 GSH의 함량 감소와 과산화지질의 함량증가가 수반되며, catalase, GST, GSH-Px와 같은 효소 활성도 매우 중요한 영향을 미친다. 본 연구의 결과, 월국환 물 추출물을 전처리함으로써 아세트아미노펜의 투여로 인한 지질과산화물의 생성 및 GSH의 고갈이 유의성있게 억제되었다. 그리고 월국환 물 추출물 투여군에서 GST의 활성이 아세트아미노펜 단독 투여군에 비해 현저하게 증가하였으며, 특히 효소 활성이 거의 정상군보다 높은 수준으로 증가하였다. 따라서 월국환 물 추출물은 아세트아미노펜의 대사과정에서 생성되는 대사활성체를 효과적으로 제거함으로써 간세포의 손상을 방어한 것으로 사료된다. 또한 catalase 및 GSH-Px의 활성은 아세트아미노펜 단독 투여군에서 정상군에 비해 감소하였으나, 월국환 물 추출물을 전처리한 실험군에서는 모두 대조군보다 증가하였다. 따라서 월국환 물 추출물은 아세트아미노펜의 대사과정에서 생성되는 hydrogen peroxide에 의한 세포막의 지질과산화 반응을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 판단된다. 이상의 결과에서 월국환 물 추출물은 메탄올 추출물에서의 연구 결과와 같이 마우스 간조직의 산화적 스트레스에 의한 손상을

방어하므로 간장 보호제로서의 개발 가능성이 시사되며, 향후 보다 다각적인 측면에서의 간세포 보호 기전을 검토할 필요성이 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

월국환 물 추출물이 아세트아미노펜에 의해 유발된 마우스 간조직의 급성 산화적 손상에 미치는 영향을 검토한 결과, 지질과산화물의 함량은 월국환 물 추출물을 전처리함으로써 현저하게 억제되었고, 반면 total SH 및 GSH의 함량은 증가하였다. 이 결과에서 월국환 물 추출물은 아세트아미노펜의 투여로 기인하는 GSH의 고갈을 효과적으로 억제함으로써 대사활성체에 의한 간세포의 손상을 방지한 것으로 판단된다. 또한 catalase, GSH-Px 및 GST의 활성 또한 월국환 물 추출물의 전처리한 실험군에서 아무런 처치도 하지 않은 정상군 수준으로 유지되었으므로, 아세트아미노펜의 대사과정에서 생성되는 활성산소종의 공격으로부터 간세포를 효과적으로 보호할 수 있을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. 주진형 : 단계의집, 북경, 인민위생출판사 1995 : 304
2. 이상인, 박선동 : 한방임상처방학, 서울, 영림사 1998 : 274-275
3. 배병철 : 대자의방집해, 서울, 성보사 1983 : 137
4. 진조조 : 중의치법여방제, 북경, 인민위생출판사 1995 : 1004-1005
5. 구병수 : 월국환 및 월국환가미방이 항스트레스 효과에 관한 실험적 연구, 동국대학교 박사학위논문, 1996
6. 양성우, 월국환이 비만생쥐의 난소반응과 임신에 미치는 영향, 경희대학교 석사학위논문, 2000
7. 문상원 : 월국환과 칠기탕이 백서의 실험적 위궤양에 미치는 영향, 동국대학교 석사학위 논문, 1998
8. 문진영 : 월국환 메탄올 추출물이 산화적 간손상에 미치는 효과. 대한방제학회지 10(2) : 85-95, 2002
9. 서경원, 류정상, 김효정 : 마우스에서 아세트아미노펜의 급성 간독성과 독물 동태학. Korean J. Toxicol. 13(3) : 237-245, 1997
10. Wendel A., Feuerstein S. and Kontz K.H. : Acute paracetamol intoxication of starved mice leads to lipid peroxidation in vivo. Biochemical Pharmacology 1979 ; 28 : 2051
11. Raheja K.L., Linscheer W.G., Cho C.D. and Mahany D. : Protective effect of propylthiouracil independent of its hypothyroid effect on acetaminophen and Experimental Therapeutics 1981 ; 220 : 427
12. Fischer L.J., Green M.D. and Harman A.W. : Levels of acetaminophen and its metabolites in mouse tissues after a toxic dose. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1981 ; 220 : 427
13. Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K. : Assay for lipid peroxides animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochem. 1978 ; 95 : 351-358
14. Sedlak T. and Lindsay R.H. : Estimation of total protein-bound and nonprotein-bound sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal. Chem. 1968 ; 25 : 192
15. Higach T. : Critical review on the determination of glutathione in biological preparation. Proteins, Nucleic Acid and Enzyme 1988 ; 33 : 1370
16. Aebi H. : Catalase. Methods of enzymatic acalysis. 2nd edition edited by Hans Ulrich Bergmeyer. 1974 : 673
17. Paglia D.E. and Valentine, W.N. : Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Lab. Clin. Med. 1967 ; 70 : 158
18. Lawrence R.A. and Burk R.F. : Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem. Biophys. Res. Comm. 1976 ; 71 : 952
19. Habig W.H., Pabst M.J. and Jabby W.B. : Glutathione-S-transferase : the

first enzymatic step mercapturic acid formation. J. Biochem. 1974 : 249

20. Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Goeke B.J. and Klenk D.C. : Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal. Biochem. 1985 ; 150 : 76-85

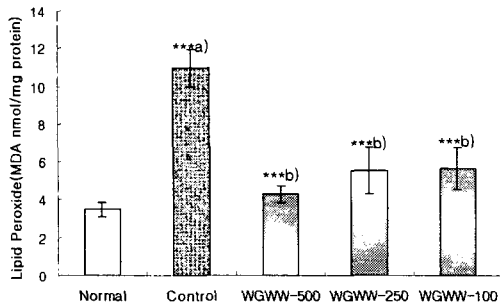


Fig 1. Effect of WGWW on Levels of Lipid Peroxide in Liver Tissue

Values are mean \pm standard error

- a) : values statically significant as compared with normal group.
- b) : values statically significant as compared with control data of each group. (** : $p < 0.01$)

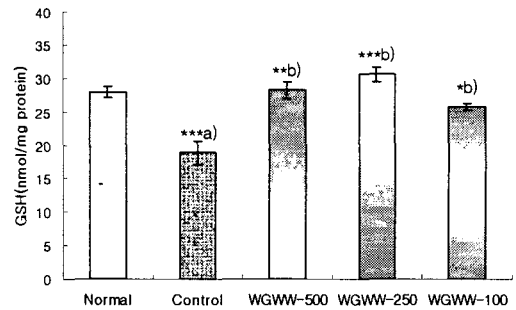


Fig 3. Effect of WGWW on Level of GSH in Liver Homogenate

Values are mean \pm standard error

- a) : values statically significant as compared with normal group.
- b) : values statically significant as compared with control data of each group. (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.02$, *** : $p < 0.01$)

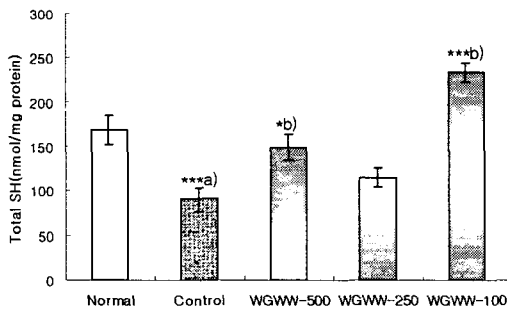


Fig 2. Effect of WGWW on Level of Total SH in Liver Homogenate

Values are mean \pm standard error

- a) : values statically significant as compared with normal group.
- b) : values statically significant as compared with control data of each group. (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

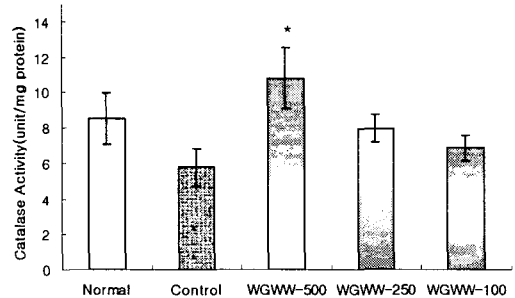


Fig 4. Effect of WGWW on Hepatic Catalase Activities in Mice

Values are mean \pm standard error

- * : values statically significant as compared with control data (* : $p < 0.05$)

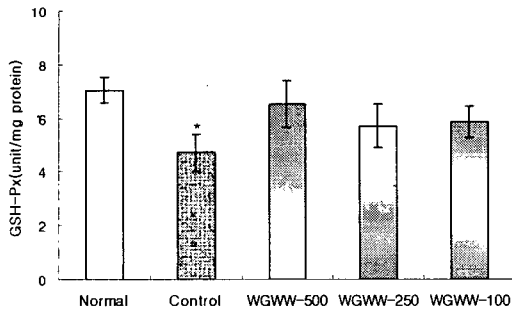


Fig 5. Effect of WGWW on Hepatic Glutathione Peroxidase Activities in Mice

Values are mean \pm standard error

: values statistically significant as compared with normal group. (: $p < 0.05$)

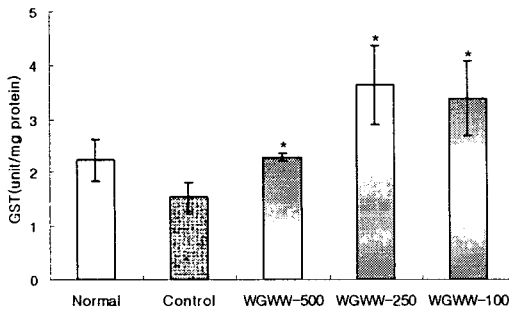


Fig 6. Effect of WGWW on Hepatic Glutathione S-Transferase Activities in Mice

Values are mean \pm standard error

: values statistically significant as compared with control data of each group. (: $p < 0.05$)