

사염화탄소를 투여한 흰쥐의 간세포에 대한 식물 추출물들의 보호효과

함영국^{1*} · 김성완²

¹서울특별시 상수도연구소 수질연구부
²강원대학교 생명과학부

Protective Effects of Plant Extracts on the Hepatocytes of Rat Treated with Carbon Tetrachloride

Young-Kook Ham^{1*} and Sung-Wan Kim²

¹Dept. of Water Quality Research, Seoul Waterworks Research Institute, Seoul 143-820, Korea
²Div. of Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract

To investigate the effects of plant extracts on the protection against liver damage by CCl₄ in rat, two kinds of experiment were performed, firstly by the primary hepatocyte culture and secondly by the animal feeding. The primary hepatocyte culture with the extracts of pine leaf, soybean sprout and mugwort showed significantly low activities ($p < 0.01 \sim 0.05$) of aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT), indicating an excellent protective effect against liver damage by CCl₄. In the second experiment, the microsomal malondialdehyde (MDA) contents of the above same groups were also significantly lower ($p < 0.01$) than the CCl₄-treated group without plant extracts, but shiitake showed less effect. Among four kinds of plant extracts, extracts of pine leaf and mugwort showed also much higher activities of the microsomal cytochrome P-450 in comparison to soybean sprout and shiitake. In the test of xanthine oxidase (XOD) activity, all of three groups except shiitake showed significantly low activities ($p < 0.01$). These consistent results *in vitro* and *in vivo* suggest that the extracts of pine leaf, soybean sprout and mugwort may have strong protective effects against liver damage induced by the potential toxicants such as CCl₄.

Key words: plant extracts, CCl₄-toxicity, malondialdehyde, cytochrome P-450, xanthine oxidase

서 론

오늘날 현대인들의 건강은 풍요로운 식생활 속에서도 산업 발달에 따른 각종의 환경오염 물질과 산업 폐기물들에 의해 심각한 위협을 받고 있다(1). CCl₄와 같은 외래의 생체 이물질들은 생체내 대사과정에서 다양한 자유기들을 생성 시킴으로서 생체 고분자들과 세포막의 산화를 유발시킨다(2,3). 생체내 독성물질의 대사과정에서 증가된 체내의 산화적 스트레스는 동맥경화, 당뇨, 암과 같은 여러 가지 질병의 원인이 되고 있음은 이미 잘 알려져 있다.

개인의 건강과 질병은 그들의 식생활에서 섭취하는 각종 영양소의 균형 여부와 꾸준한 건강관리에 크게 의존되고 있다. 현대인들의 건강지향적 성향은 식생활에도 많은 변화를 추구하고 있으며, 최근에는 다양한 기능성 식품의 개발, 양질의 식품재료 선택, 또는 새로운 기능성 식물소재의 탐색에 관심이 집중되고 있다. 이와 동시에, 시장에 유통되는 수많은 기능성 식품 중에서 일부의 제품들은 그 효과가 과장되거나 왜곡된 정보를 제공하는 경우도 있고, 간혹 과학적으로

규명되지 않은 효능 또는 기능성을 표방하므로써 오히려 개인의 건강에 좋지 않은 영향을 미치는 경우도 있다.

자연에서 야생으로 자라거나 재배된 많은 식물들은 채취되어 인간의 사용목적에 따라 식용이나 약용으로 섭취해 왔다. 콩나물, 미나리, 버섯류, 둥글레 뿌리, 산나물 등과 같은 많은 식물들은 주로 식용으로 섭취한 반면에, 인진쑥, 익모초, 감잎, 도라지, 솔잎 등의 일부 식물들은 한방 및 민간요법에서 필요한 약재나 기호식품으로 가공되어 흔히 사용되어 왔다. 이와 관련하여 본초강목 및 동의보감 등(4,5)에는 자연에서 서식하거나 재배되는 수많은 식물들에는 인체에 유효한(약효)성분을 함유하고 있다고 기록되어 있다. 지금까지의 많은 연구들을 통하여 대다수의 식물들에는 인체에 유익한 비타민·미네랄류, 식이 섬유와 플라보노이드 등 각종 기능성 성분들을 많이 포함되어 있음이 밝혀지고 있다. 그러나 일부의 식물들을 제외하곤, 대부분의 식물들에 함유된 다양한 성분들에 대한 물리·화학적, 생리학적 특성은 아직도 밝혀지지 않고 있다. 따라서 지금까지 일상생활에서 섭취되어 왔던 다양한 식물들의 특성을 과학적으로 밝히고, 그들의 효

*Corresponding author. E-mail: hampark66@yahoo.co.kr
Phone: 82-2-2049-1054. Fax: 82-2-2049-1013

용성을 극대화하며, 인체에 대한 안전성을 확보하려는 관련 연구의 필요성은 더욱 증대되고 있다.

본 연구는 우리가 일상생활에서 식용이나 약용으로 사용해 왔을 뿐만 아니라 주변에서 쉽게 이용 가능한 인진쑥, 콩나물, 솔잎 및 표고버섯 등의 식물을 대상으로 식물의 특성 중에서 항산화적 기능성을 조사하고자 하였다. 생체 노출시 외래 생체이물질로서 간손상을 유발하는 산업용 유기용매인 CCl₄를 독성물질로 사용하여(6) *in vitro* 및 *in vivo*에서 이들 식물추출물의 간보호 효과를 혈액과 간조직을 대상으로 실시하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

실험대상의 식물성 소재들은 모두 국내산으로 봄에 산에서 채취, 또는 시장에서 구매(강원, 한국)하여 사용하였다. Collagenase(Type IV), pentobarbital, fetal bovine serum (FBS), penicillin(100 units/mL), streptomycin(100 µL/mL), trypan-blue, CCl₄, dimethyl sulfoxide, sodium dodecyl sulfate(SDS), xanthine sodium(XOD), hypoxanthine, Hank's buffer(pH 7.5) 및 HEPES(pH 7.5) 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA)에서 구입하였다. 동물식이용 성분들은 ICN Pharmaceuticals Inc.(Costa Mesa, CA, USA)에서 구매하여 AIN-76TM(7)에 따라 조제하여 사용하였다. Aspartate aminotransferase(AST)와 alanine aminotransferase (ALT) 효소활성 측정용 kit는 아산제약(주)(서울, 한국) 제품을, 그 외의 시약은 특급이상의 제품을 사용하였다.

시료의 추출과 식이조제

본 실험에서 사용된 4종류의 식물성 소재들은 - 솔잎(pine leaf) *Pinus strobus*, 콩나물(soybean sprout), 인진쑥(mugwort) *Artemisia capillaris* 및 표고버섯(shiitake) *Lentinus edodes* - 응달에서 말린 후에 열수 및 에탄올로 추출하였다. 열수 추출방법은 음건 세절한 시료 200 g에 증류수 2 L를 가하고 환류냉각기에서 12시간 끓임을 2회 반복한 후에 감압 여과한 여과액을 동결 건조하여 열수 추출 시료로 사용하였다. 또한 에탄올 추출방법은 열수 추출방법과 동일한 과정을 통하여 에탄올 추출 시료를 제조하였다. 각각의 추출물들은 흰쥐의 간세포 배양액에 직접 첨가하였거나, 또는 그 추출물을 곱게 분쇄하여 실험동물의 사료조제에 첨가하였다. 본 실험의 기본 식이는 AIN-76 식이조성(7)에 따랐고, 각각의 식물 추출물별 첨가 식이의 조성은 기본식이에 5%씩 포함되도록 조제하였다(Table 1).

실험동물 사육 및 사염화탄소 처리

실험동물은 이유한 후 1주령이 된 Sprague-Dawley 중의 수컷 흰쥐를 분양받아 1주일간 시판 고형사료(삼양사료)를 급여하면서 실험실 환경에 적응시켰다. 흰쥐가 평균체중(약

Table 1. The composition of basal and experimental diets (%)

Ingredients	Basal diet	Exp. diet
Casein	20.0	20.0
Sucrose	15.0	10.0
Corn oil	10.0	10.0
Starch	50.0	50.0
Mineral mixture ¹⁾	3.5	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2
Methionine	0.3	0.3
Vegetable powder ³⁾	-	5.0

¹⁾Mineral and ²⁾vitamin mixtures were made according to AIN-76TM (7).

³⁾Vegetable powder: pine leaf, soybean sprout, mugwort, shiitake.

150 g)으로 성장한 후에 실험목적에 따라 3주 동안 기본 식이(정상군), 또는 식물소재 첨가식이(실험군)를 해당 군들에게 급여하였다. 정상군은 2군의 대조군과 사염화탄소투여군으로 나누었고, 실험군은 식물소재 추출물의 첨가에 여부에 따라 4군의 솔잎첨가군, 콩나물첨가군, 인진쑥첨가군 및 표고버섯첨가군으로 나누어 실험동물군은 총 6군으로 구분하였다. 동물사육실의 온도는 20±2°C를 유지하였으며, 조명은 12시간 주기로 조절하였다. 실험 동물군별로 해당 식이를 3주 동안 급여한 후에 대조군을 제외한 실험군들에게 2일간 연속하여 olive oil과 사염화탄소(1 : 1)의 혼합액을 1 mL/kg 체중에 상응하는 용량을 2회 복강에 주사하였다. 단, 대조군은 사염화탄소를 투여하는 대신 동량의 olive oil만을 주사하였다. 모든 실험동물들은 2일 간의 사염화탄소를 모두 처리한 다음날 희생시켜 혈액과 간을 다음 실험에 사용되었다.

일차 간세포 배양과 사염화탄소 처리

간 조직에 처리한 사염화탄소의 독성유발에 대응하는 식물 추출물들의 세포보호 효능을 직접 확인하고자 200~250 g의 Sprague-Dawley 수컷 흰쥐를 사용하여 일차 간세포 배양을 수행하였다. 간세포의 분리는 Meijer 등의 방법(8)에 따라 collagenase(Sigma, Type IV)용액을 간 조직내로 관류시키는 방법으로 실시하였다. 맨 처음에 pentobarbital(5 mg/100 g 체중)로 마취된 쥐를 개복한 후에 문정맥에서 하대정맥 방향으로 Ca⁺⁺-free Hank's buffer를 관류시켜 간 조직내의 혈액을 세척한 다음 하대정맥을 묶고 0.05% collagenase 용액을 상대정맥으로 보내면서 간세포 분리를 행하였다. 소화된 간 조직은 normal Hank's buffer(pH 7.45)에 넣어 원심분리(800 rpm, 4°C)를 한 다음 10% FBS와 항생제(penicillin: 100 units/mL, streptomycin: 100 µL/mL)를 포함하는 DME 배지에 분산시켜 trypan-blue(0.4%) 염색 후에 현미경상에서 세포수를 측정하였다. 멸균된 petri-dish에 3×10⁶개의 세포들을 분주하고 각각의 해당 식물추출물을 20 mg/mL 함유된 배지의 총배양액이 3 mL가 되도록 조정된 후에 CO₂-배양기(5% CO₂, 95% O₂)에서 2시간 동안 배양시켰다. 그 다음에는 50 µL의 사염화탄소(동량의 dimethyl sulfoxide에

용해)를 배지에 첨가하였고, 2시간 후에 세포를 원심분리(800 rpm, 4°C)시켜 배지 내로 유출된 AST와 ALT의 효소 활성을 측정하였다. 이 효소들의 활성은 Reitman과 Frankel 방법(9)에 따라 AST/ALT 효소활성 측정용 kit(AM 1010-K)를 사용하였다.

간세포의 microsome 분리

간세포의 microsome 분리는 Palozza 등(10)의 방법에 따라 4°C에서 실시하였다. 적출된 간조직을 1 g당 5배의 0.25 M sucrose와 0.5 mM EDTA를 포함하는 냉각된 5 mM HEPES(pH 7.5)를 가한 후에 균질화시켰다. 간 조직의 균질액은 8,000 g과 18,000 g에서 연속 10분씩 원심분리하여 핵과 미토콘드리아 분획을 제거한 후에 최종적으로 105,000 g에서 60분간 초원심분리하여 microsomal pellet을 얻었다. Microsomal pellet은 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 현탁시켜 단백질 정량(11)한 다음 실험에 사용하였다.

간 세포내 과산화지질의 정량

사염화탄소 투여로 생성된 간의 과산화지질은 Draper와 Hadley의 방법(12)으로 정량하였다. 즉, 간 조직으로부터 분리한 0.5 mg의 microsome 단백질을 200 μ L의 8.1% SDS 용액과 1.5 mL의 20% acetic acid를 첨가하여 잘 혼합한 후에 1.0 mL의 1.2% TBA 용액을 넣고 30분간 수욕상에서 가열한 다음 실온에서 식혔다. 이것을 2,000 rpm(4°C)에서 10분간 원심분리하여 취한 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 과산화지질의 함량은 단백질 mg당 nmole의 MDA량으로 표시하였다.

Cytochrome P-450 함량 측정

Cytochrome P-450 함량은 Omura와 Sato의 방법(13)에 의해 측정하였다. 간 조직으로부터 분리한 microsome 분획을 CO gas로 1분간 기포가 생기는 약한 압력으로 포화시킨 후에 환원제로 sodium dithionite를 넣고 혼합하였을 때 생기는 환원된 microsome 분획과 CO-microsome 복합체의 분획간의 차이를 400~500 nm에서 스펙트럼을 그렸다. 450~490 nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450-CO complex에 의한 흡광량으로 하고 cytochrome P-450 complex의 mole

흡광계수 91 mM⁻¹cm⁻¹을 이용하여 cytochrome P-450 함량을 계산하고, 단백질 1 mg당 nmole로 표시하였다.

Xanthine oxidase 활성 측정

XOD활성은 Stripe과 Della Corte의 방법(14)에 따라 측정하였다. 0.127 M potassium phosphate buffer(pH 7.5), 60 μ M xanthine sodium, 30 μ M hypoxanthine, 그리고 0.5~1.0 mg의 microsome 단백질을 포함하는 총반응액을 4 mL로 하여 37°C에서 5분간 반응시켰다. 20% TCA를 첨가하여 반응을 종료시키고 단백질을 침전시킨 다음 2,300 rpm(4°C)에서 10분 동안 원심분리를 한 후에, 그 상등액을 취하여 생성된 uric acid 함량을 292 nm에서 측정하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차로 표시하였고, Student's t-test로 유의성 검정을 행하였다.

결과 및 고찰

간세포 배양배지와 혈청내 AST와 ALT의 효소활성

에탄올과 열수로 추출된 4종류(솔잎, 콩나물, 인진쑥, 표고버섯)의 식물 추출물에 의한 간보호 효과를 확인하기 위해 사염화탄소를 처리한 일차 간세포 배양 배지 내(Table 2)와 사육동물의 혈청 내(Table 3)로 유출된 AST 및 ALT의 효소 활성을 각각 비교하였다. 이미 잘 알려진 바와 같이, 혈청이나 배지 내에서 이들 효소의 활성증가는 간세포 손상 유발물질에 의한 간세포들의 손상을 의미할 수 있다(15). 우선적으로 일차 간세포 배양 결과에서, 솔잎의 에탄올 추출물인 경우 AST와 ALT 효소활성 모두는 사염화탄소투여군에 비하여 유의성 있게 낮은 활성(p<0.05)을 나타내었고, 그 외의 식물 추출물 첨가군들은 ALT에서 낮은 활성(p<0.01)을 나타내었다. 특히, 솔잎의 열수 추출물에서도 AST 및 ALT 효소는 모두 유의성 있게 낮은 활성을 나타냄으로서 솔잎의 탁월한 간보호 효과를 확인할 수 있었다. 이러한 실험결과는 이전에 보고된 여러 연구결과들과 잘 일치하였다(16,17). Choi와 Kim(18)은 사염화탄소를 처리한 쥐에 대한 몇 가지 식물들(어성초, 오갈피, 인진쑥, 표고버섯, 솔잎, 콩나물,

Table 2. The activities of AST and ALT in culture medium of the CCl₄-treated hepatocytes after vegetable extract administration

Groups ¹⁾	AST (karmen units/mL)		ALT (karmen units/mL)	
	Ethanol extract	Water extract	Ethanol extract	Water extract
Control	192.57 ± 2.65 ²⁾	176.09 ± 2.69	78.01 ± 2.07	93.84 ± 2.52
Carbon tetrachloride	231.08 ± 4.52	246.53 ± 5.32	117.01 ± 3.67	121.84 ± 6.23
Pine leaf	176.75 ± 5.36**	155.42 ± 1.90**	49.55 ± 3.05**	82.18 ± 5.22**
Soybean sprout	195.87 ± 4.01	149.68 ± 1.11**	67.36 ± 4.44*	91.01 ± 6.72
Mugwort	208.57 ± 3.22	191.91 ± 1.42	68.32 ± 2.41*	92.10 ± 1.18
Shiitake	205.87 ± 3.38	151.47 ± 12.9**	72.67 ± 6.07	88.60 ± 3.16*

¹⁾The cells (3 × 10⁶) were treated with 50 μ L of CCl₄ dissolved in dimethyl sulfoxide (50 μ L) after 2 hours-long incubation with 20 mg of each vegetable extract.

²⁾The values are mean ± SD of 4 experiments in the same condition **p<0.01 vs CCl₄-group and *p<0.05 vs CCl₄-group.

Table 3. The activities of AST and ALT in serum of the CCl₄-treated rat after vegetable powder administration

Groups ¹⁾	AST (karmen units/mL)	ALT (karmen units/mL)
Control	240.51 ± 2.54 ²⁾	58.46 ± 4.30
Carbon tetrachloride	309.55 ± 9.16	139.37 ± 2.60
Pine leaf	182.61 ± 3.33**	46.91 ± 5.57**
Soybean sprout	250.89 ± 6.32**	93.36 ± 2.74**
Mugwort	264.51 ± 5.33**	122.40 ± 7.49
Shiitake	271.85 ± 6.13	140.45 ± 4.04

¹⁾Diet and water fed *ad libitum* 3 weeks long followed by CCl₄-injection (1 mL/kg BW) in twice. **p<0.01 vs CCl₄-group.

²⁾The values represent mean ± SD of 5 rats per each group in the same condition.

메밀싹)의 간 보호효과를 비교했을 때 솔잎과 콩나물은 혈청 AST와 ALT의 효소활성뿐만 아니라 간장 내의 지방산합성도 월등하게 억제한다고 보고하였다. 본 실험에서도 콩나물의 경우에 에탄올 추출물은 ALT, 그리고 열수 추출물에서는 AST에서 낮은 활성을 나타내었다. 반면에 인진쑥은 에탄올 추출물인 경우에 ALT 효소활성에서, 표고버섯은 열수 추출물인 경우에 AST와 ALT 효소 모두에서 낮은 활성을 보였다. 따라서 본 실험에서는 솔잎과 표고버섯이 다른 추출물들에 비하여 간 보호 기능이 탁월하다고 나타났다. 또한 실험에 사용된 식물소재들은 전반적으로 열수 추출물로도 충분한 간 보호효과를 발휘할 수 있음을 보여주었다. 이와 유사한 연구결과와는 5%의 식물 추출물이 첨가된 조제사료를 3주 동안 급여 받은 실험 동물군들을 사염화탄소로 처리한 실험동물의 혈청에서도 확인할 수 있었다(Table 3). 즉, 동물실험에서도 상기 두 효소들의 활성은 솔잎과 콩나물에서 유의성 있게(p<0.01) 낮은 활성을 나타냈으며, 인진쑥과 표고버섯은 다른 식물 소재에 비하여 상대적으로 높은 활성을 나타내었다.

간세포내 과산화지질 정량

흰쥐에 대한 사염화탄소의 투여는 간세포 내의 microsome 산화를 크게 증가시킨 것으로 나타났으며, 실험동물에 투여한 사염화탄소의 독성에 대항하여 표고버섯을 제외한 솔잎, 콩나물과 인진쑥 등의 추출물을 첨가한 실험동물 군에서 다소 유의성 있는(p<0.01) 간세포의 지질산화 억제효과가 있었음을 보였다(Table 4). 이와 같은 결과는 3주 동안 조제사료에 첨가된 식물소재들의 사전섭취가 사염화탄소 처리에 의한 간세포의 산화독성을 억제한 것으로 사료되었다.

간세포내 cytochrome P-450 함량

식물소재 추출물을 첨가한 사료를 3주간 급여하고, 2회에 걸쳐 사염화탄소를 주사한 간조직에서 분리한 microsome내의 cytochrome P-450 함량변화는 Table 5와 같았다. 간 손상 유발물질로서 처리된 사염화탄소는 간세포 내의 약물해독과 배설에 관련된 cytochrome P-450량을 대조군에 비하여 65% 이상으로 증가시켰다. 이러한 결과는 발암물질이나

Table 4. MDA formation in the CCl₄-treated rat liver microsome after vegetable powder administration

Groups	MDA formation (nmole/mL)
Control	31.68 ± 0.46 ¹⁾
Carbon tetrachloride	34.07 ± 0.21
Pine leaf	30.65 ± 0.09**
Soybean sprout	28.41 ± 0.46**
Mugwort	26.93 ± 0.26**
Shiitake	33.33 ± 0.31

¹⁾The values represent mean ± SD of 5 rats per each group in the same condition.

**Significant test was performed by the Student's t-test (p<0.01) in comparing to the values of CCl₄-treated group.

Table 5. Contents of microsomal cytochrome P-450 in the CCl₄-treated rat liver after vegetable powder administration

Groups	Cytochrome P-450 (nmole/mg protein)
Control	0.29 ± 0.004 ¹⁾
Carbon tetrachloride	0.48 ± 0.005
Pine leaf	0.46 ± 0.018
Soybean sprout	0.37 ± 0.005**
Mugwort	0.46 ± 0.004
Shiitake	0.29 ± 0.005**

¹⁾The values represent mean ± SD of 5 rats per each group in the same condition.

**Significant test was performed by the Student's t-test (p<0.01) in comparing to the values of CCl₄-treated group.

당뇨 유발물질들을 투여한 실험동물들에서 이 단백질의 함량이 현저하게 증가함을 보고한 기존의 국내외 연구결과들(19-22)과 일치하였다. 일련의 cytochrome P-450 단백질들은 약물이나 독성물질들을 체외로 배설시킬 수 있도록 이들 물질에 hydroxyl 기를 부착시킴으로서 수용성을 증가시키는 mixed function oxidase 계에서 매우 중요한 기능을 수행한다고 알려져 있다. 사염화탄소를 투여 전에 식물 추출물들을 미리 섭취한 실험군 중에서 솔잎과 인진쑥 첨가군은 사염화탄소투여군과 유사한 수치를 보인 반면에 콩나물과 표고버섯 첨가군에서는 오히려 유의성 있게 낮은 측정값을 나타내었다. 이러한 결과는 Table 4의 MDA 실험에서 나타난 항산화적 결과들과는 다소 상이한 패턴을 보여주므로써 천연 항산화제(예: vitamin C) 첨가가 cytochrome P-450 함량의 직접적인 증감 효과보다는 독성물질의 종류 및 투여량과 더 밀접한 관계를 있다는 연구결과(21)와 유사하게 나타났다.

간세포 내의 XOD 활성 측정

XOD는 생물체내에서 핵산의 분해대사와 사염화탄소, 톨루엔 등의 외래 독성물질의 대사에 관련된 효소로서 이들 물질의 대사 중에 H₂O₂를 통해 자유기 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다(23). 이 효소의 활성증가는 생체방어기전의 가동과 함께 세포에 해로운 자유기의 생산증가를 뜻할 수도 있다. Table 6에서 나타난 사염화탄소의 투여로 높아진 XOD의 활성증가는 이전에 보고된 에탄올(24), 사염화탄소(25), streptozotocin(26), xylene(27) 등의 외래의 생체이물질

Table 6. The activity of xanthine oxidase in the CCl₄-treated rat microsome after vegetable powder administration

Group	Xanthine Oxidase (uric acid nmol/mg protein/min)
Control	2.06±0.03 ¹⁾
Carbon tetrachloride	2.43±0.14
Pine leaf	1.60±0.16**
Soybean sprout	1.64±0.02**
Mugwort	1.63±0.02**
Shiitake	2.20±0.17

¹⁾The values represent mean±SD of 5 rats per each group.

**Significant test was performed by the Student's t-test (p<0.01) in comparing to the values of CCl₄-treated group.

들에 관한 실험결과들과 일치하였다. 본 실험에서 식물소재의 첨가는 사염화탄소첨가군에 비하여 표고버섯을 제외한 솔잎, 콩나물 및 인진쑥 등의 첨가군에서 유의성 있는(p<0.01) 억제효과를 보여 주었다.

요 약

본 실험은 사염화탄소 독성에 대한 몇 가지의 식물소재들 - 솔잎, 콩나물, 인진쑥, 표고버섯 - 의 간보호 효과를 조사하기 위하여 수행되었다. 우선적으로 일차 간세포 배양실험에서 식물추출물(열수 또는 에탄올)을 첨가(20 mg/mL 배지)하고 2시간 후에 사염화탄소를 처리(50 µL)한 결과, 배지내의 AST와 ALT 효소활성은 다음과 같았다. 솔잎은 에탄올 및 열수 추출물(p<0.05)에서, 표고버섯은 열수 추출물(p<0.01~0.05)에서, 그리고 콩나물과 인진쑥은 추출방법에 따라 유의성 있는(p<0.01) 감소를 보였다. 또한, 3주간의 식물 추출물을 첨가한 사료를 사전급여하고 사염화탄소를 2일간 복강주사(1 mg/kg 체중)한 동물실험에서 혈청내의 AST 및 ALT 활성은 간세포 배양의 결과와 유사하게 솔잎과 콩나물에서 낮은 활성효과(p<0.01)를 보였다. 정상군에 대한 사염화탄소의 투여는 지질과산화물과 cytochrome P-450의 함량, 그리고 xanthine oxidase(XOD) 활성을 크게 증가시켰다. 그러나 식물소재 중에서 솔잎, 콩나물, 인진쑥 등을 추출물을 첨가한 실험군에 대한 사염화탄소 처리는 일반적으로 지질과산화와 XOD 활성증가를 억제하는 것(p<0.01)으로 나타난 반면에, cytochrome P-450의 함량 증가는 솔잎과 인진쑥의 첨가군에서 관찰되었다. 따라서 본 실험에서 cytochrome P-450의 함량증가에 대한 식물 추출물들의 효과는 확실하지 않았지만, 솔잎과 콩나물의 추출물은 항산화관련 실험에서 대부분 탁월한 효과를 나타내었다.

문 헌

- Cheseman KH, Albano EF, Tomasi A, Slater T. 1985. Biochemical studies on the metabolic activation of halo-generated alkanes. *Environ Health Perspect* 64: 85-101.
- Villarruel MC, Diaz Gomez MI, Castro JA. 1975. The nature of the *in vitro* irreversible binding of carbon tetrachloride

- to microsomal lipids. *Toxicol Appl Pharmacol* 33: 106-114.
- Recknagel RO, Ghoshal AK. 1966. New data on the question of lipoperoxidation in carbon tetrachloride poisoning. *Exp Mol Pathol* 5: 108-117.
- 이시진. 1976. 국역 본초강목 1, 2, 3 시리즈: 신주교정. 행림출판, 서울.
- 허준. 2003. 동의보감(원문대역). 2차 개정판. 김동일 조현영 공역. 여강출판사, 서울.
- Recknagel RO, Glende EA Jr. 1973. Carbontetrachloride hepatotoxicity: an example of lethal cleavage. *CRC Crit Rev Toxicol* 2: 263-297.
- AIN-76. 1977. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc Committee on Standards for Nutritional Studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
- Meijer DKF, Keulemans K, Mulder GJ. 1981. Isolated perfused rat liver technique. *Meth Enzymol* 77: 81-93.
- Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 28: 56-63.
- Palozza P, Moualla S, Krinsky NI. 1992. Effects of β-carotene and α-tocopherol on radical-initiated peroxidation of microsomes. *Free Radical Biol & Med* 13: 127-136.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Draper HH, Hadley M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Meth Enzymol* 186: 421-431.
- Omura T, Sato R. 1964. The carbon monoxide binding pigment of liver microsome: Evidence for its hemoprotein nature. *J Biol Chem* 239: 2370-2378.
- Stripe F, Della Corte E. 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.
- Zimmerman HJ. 1981. Chemical hepatic injury and its detection. In *Toxicology of the liver*. Plaa GL, Hewitt WR, eds. Raven Press, New York.
- Kim SM, Cho YS, Kim EJ, Bae MJ, Han JP, Lee SH, Sung SK. 1998. Effect of hot water extracts of *Salvia miltiorrhiza* Bge., *Prunus persica* Stokes, *Angelica gigas* Nakai and *Pinus strobus* on lipid oxidation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 399-405.
- Kang YH, Park YK, Ha TY, Moon KD. 1996. Effects of pine needle extracts on serum and liver lipid contents in rats fed high fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 367-373.
- Choi YS, Kim SW. 2000. Protective effects of some plant extracts on lipids contents of rats treated with carbon tetrachloride. *Korean J Plant Res* 13: 171-178.
- Astrom A, Meijer J, Depierre JW. 1983. Characterization of the microsomal cytochrome p-450 species induced in rat liver by 2-acetylaminofluorescence. *Cancer Res* 43: 342-348.
- Chang JS, Kim HJ, Bae JT, Park SH, Lee SE, Kim OM, Lee KR. 1998. Inhibition effects of *Auricularia auricula-judae* methanol extract on lipid peroxidation and liver damage in bezo(a)pyrene-treated mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 712-717.
- Chung YJ, Lim EY, Kim H. 1997. Effect of ascorbic acid supplementation on hepatic microsomal and mitochondrial cytochrome P450 system in diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 682-688.
- Schenkman JB, Thummel KE, Favreau LV. 1989. Physiological and athophysiological alteration in rat cytochrome p-450. *Drug Metab Rev* 20: 557-584.

23. Watts RWE, Watts JEM, Seegmiller JE. 1965. Xanthine oxidase activity in human tissue and its inhibition by allopurinol. *J Lab Med* 66: 688-697.
24. Oei HH, Kentroo WE, Burton KP, Schaffer SW. 1982. A possible role of xanthine oxidase in producing oxidative stress in the heart of chronically ethanol treated rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 38: 453-461.
25. Yoon CG, Park HS, Lee SI. 1993. Effect of dietary tungstate on the liver damage in CCl₄-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22: 678-684.
26. Park GY, Lee SJ, Im JG. 1997. Effects of green tea catechin on cytochrome P450, xanthine oxidase activities in liver and liver damage in streptozotocin induced diabetic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 901-907.
27. Lee SH, Jeon TW, Yoon CG. 1998. Effect of ethanol-pretreatment on the liver xanthine oxidase activity in xylene-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 739-744.

(2004년 7월 1일 접수; 2004년 9월 6일 채택)