

실험적 간장해에 대한 강활의 보호효과

윤수홍, 하헌^{1,*}

대구가톨릭대 약학과, ¹상록병원 약제과

Protective Effects of *Angelica koreana* on Experimentally Induced Liver Injury

Soo Hong Yoon and Hun Ha^{1,*}

Department of Pharmacy, Catholic University of Taegu, Kyongsan 712-702, Korea

¹Department of Pharmacy, Sangrok Hospital, Kyongju 780-881, Korea

ABSTRACT

The present study was carried out to find the possible protective effects of *Angelica koreana* water extract on biochemical parameters in benzo(a)pyrene (B(a)P)-induced liver injury in rats. B(a)P treatment (0.1 mg/kg, i.p.) caused a liver damages, which led to biochemical alterations in serum and liver enzyme activities and serum lipid levels. The activities of liver marker enzymes, especially, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) were markedly changed in B(a)P treatment. Oral administration of *Angelica koreana* (50 mg/kg) recovered these biochemical parameters to near normal levels. Therefore, the present results have revealed that *Angelica koreana* water extract might have the antihepatotoxic effect and consequently ameliorate liver damage associated with B(a)P in rats.

Key words : *Angelica koreana*, benzo(a)pyrene, antihepatotoxic effect

서론

Benzo(a)pyrene (B(a)P)은 탄소화합물의 불완전 연소에 의해 생성되는 다환방향족 탄화수소 (polycyclic aromatic hydrocarbons)로서 식품, 매연, 담배 등의 실생활 전반에 걸쳐 다양하게 분포되어 있는 강력한 발암물질이다 (Fischman *et al.*, 1990). 체내에 흡수될 경우 간의 실질세포에서 주로 대사되며, 혈청 albumin과 결합하여 이동하는데, cytochrome

P448에 의해 작용하는 arylhydrocarbon hydroxylase에 의해 활성화되어 non-K region에 epoxide를 형성한 후, epoxide hydroxylase에 의해 mixed function oxidase의 작용에 의해 B(a)P-diolepoxide로 대사된 후 간을 주된 target organ으로 발암작용이 개시되는 것으로 알려져 있다 (Osborne *et al.*, 1976; Weinstein *et al.*, 1976).

한편 강활은 Umbelliferae에 속하는 *Angelica koreana*의 뿌리 혹은 뿌리줄기를 말린 것을 말하는데, 진통, 소염 등의 효능을 나타내므로 민간에서 주로 오한해열, 관절염, 두통, 근육통 등에 사용되어 왔다 (Ryu and Yook, 1968; Moon *et al.*, 1999; Sar-

*To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-54-751-6778, E-mail: hunha@hotmail.com

kers and Nahar, 2004). 현재까지 주성분으로는 imperatorin, isoimperatorin, oxypeucedanin, oxy-peucedanin hydrate 등의 coumarine계 물질 (Yook and Ryu, 1970; Suk, 1976; Lee and Woo, 1982; Kwon *et al.*, 1991; Cho *et al.*, 1998; Ryu *et al.*, 2001; Seo *et al.*, 2002)과 정유성분 (Chi *et al.*, 1993) 등과 항간디스토마작용 (Rhee *et al.*, 1981)을 가진다고 알려져 있을 뿐, 기타 생체에서의 약효 및 그 기전에 관한 연구의 보고는 극히 미약한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 강활 수침액의 간 보호능력을 알아보고자 실험동물에 B(a)P를 투여하여 간 독성을 유발하는 한편 간기능의 지표로 사용되는 효소 활성과 지질 함량의 변화를 측정하여 강활의 간보호 효과에 대한 기초 자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 강활 (*Angelica koreana*)은 2004년 대구시 소재 한약건재상에서 구입하여 세정, 음건하여 강활의 뿌리(3 kg)에 물을 가하여 10시간씩 3회 추출한 후 감압 농축시켜 250 g을 얻어 적절한 농도로 희석하여 수침액으로 사용하였다.

2. 동물실험

외견상 건강한 4주령 SD계 웅성 흰쥐를 일반 고형사료(삼양사, 서울)와 물을 충분히 공급하며 환경에 적응시킨 후, 평균 체중이 180 ± 20 g인 것을 8마리씩 5군으로 난괴법에 따라 분리하여 실험에 사용하였고, 사육실의 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 로 유지하였으며, 12시간 주기로 명암을 조절하였다. 실험군은 정상군(normal), 강활 (*Angelica koreana*) 투여군, benzo(a)pyrene 투여군, 강활 전처리군(pre-treatment)과 강활 후처리군(post-treatment)으로 분리하였고, 강활 전처리군은 강활 수침액을 1일 1회 일정시간에 2주일간 투여시킨 후, 마지막 투여시 B(a)P를 복강 투여하였으며, 24시간 이후 도살하였다. 강활 후처리군은 B(a)P를 1회 복강 투여 직후부터 강활 수침액 일정량을 각각 1일 1회 2주일간 투여하였다. 강활 수침액은 체중 1 kg당 50 mg을 경구투여 하였으며, B(a)P는 체중 1 kg당 0.1 mg을

복강 투여 하였다.

3. 시료 조제

대구가톨릭대학에서 사육한 흰쥐를 24시간 절식시킨 다음, 에테르로 마취시켜 개복하여 복부대동맥으로부터 채혈한 뒤 실온에서 30분간 방치한 후, 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 효소 활성 및 지질 함량 측정 시료로 사용하였다. 간 조직을 생리식염수로 관류시켜 조직내 혈액을 제거하고 적출하여, 간 조직 일정량에 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하고, glass teflon homogenizer로 마쇄하여 20% (w/v) 균질액을 얻고, 600 g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상정액을 얻고, 이것을 다시 10,000 g에서 20분간 원심분리하여 얻은 분획을 측정의 시료로 사용하였다.

4. 혈청 및 조직에서의 효소활성과 지질 함량 측정

조제한 시료에 대하여 혈청과 간조직중의 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT) 활성도는 Reitman-Frankel법 (1957)으로, alkaline phosphatase (ALP) 활성도는 Kind-King법 (1954)에 준하였으며, lactate dehydrogenase (LDH) 활성도와 total cholesterol, HDL-cholesterol, triglyceride, phospholipid 함량은 효소법 (Takayama *et al.*, 1977)으로 조제된 아산제약(서울, 한국) 시약을 사용하였다.

5. 통계처리

실험결과의 통계처리는 Student's t-test에 준하여 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 혈청의 효소활성에 미치는 영향

다양한 간질환을 진단하고 관리하는데 혈청 중의 효소 활성을 검토하는 것이 매우 유용하다. 가장 흔히 적용되는 효소는 AST, ALT, ALP 등이며,

Table 1. The effects of *Angelica koreana* water extract on serum enzyme activity in benzo(a)pyrene treated rats

	AST ¹⁾	ALT ¹⁾	LDH ²⁾	ALP ³⁾
Normal	21.2±3.57	27.0±1.73	19.5±2.15	22.2±2.85
<i>Angelica koreana</i>	19.6±1.11	27.5±1.73	27.5±2.03	22.4±3.61
Benzo(a)pyrene	80.8±8.53*	57.7±6.07*	53.9±2.93	44.3±6.18
Pretreatment	35.5±4.49	30.6±2.78	38.2±2.37	26.9±2.00
Posttreatment	30.0±1.40	29.5±3.40*	27.0±3.90	25.5±3.61

Values are mean±S.D. of 8 rats. ¹⁾karmen unit, ²⁾IU/L, ³⁾king-armstrong unit. *Angelica koreana* extract (50 mg/kg/day) was given orally for 2 weeks before/after benzo(a)pyrene treatment (0.1 mg/kg, i.p.). *p<0.05. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase

Table 2. The effects of *Angelica koreana* water extract on liver enzyme activity in benzo(a)pyrene treated rats

	AST ¹⁾	ALT ¹⁾	LDH ²⁾	ALP ³⁾
Normal	64.1±1.8	162.4±10.7	172.3±1.7	25.2±1.9
<i>Angelica koreana</i>	72.3±17.4	184.2±19.0	226.4±15.3	29.6±3.5
Benzo(a)pyrene	252.4±19.8*	466.5±26.6*	425.0±5.8*	133.1±4.0*
Pretreatment	99.4±6.3*	223.1±9.6	342.1±25.8	115.6±39.2
Posttreatment	96.5±33.9	215.4±1.1*	285.3±23.4*	106.4±20.9

Values are mean±S.D. of 8 rats. ¹⁾karmen unit, ²⁾IU/L, ³⁾king-armstrong unit. *Angelica koreana* extract (50 mg/kg/day) was given orally for 2 weeks before/after benzo(a)pyrene treatment (0.1 mg/kg, i.p.). *p<0.05. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase

gamma-glutamyl transferase (GGT)도 가끔 적용된다 (Wolf, 1999). B(a)P을 투여하여 간장해를 유발한 흰쥐 혈청중의 효소활성도 변화에 미치는 강활 수침액의 영향은 Table 1과 같다. 강활 수침액만의 투여는 aminotransferase 활성도에는 별다른 영향을 미치지 못하여 정상군과 거의 비슷하였지만, B(a)P의 투여로 AST는 약 4배, ALT는 약 2배 증가시켜 간의 손상정도가 현저하였다. 반면 증가한 효소활성은 강활 수침액 투여로 현저히 감소하였는데, 전처리에 의해서는 약 56~47%, 후처리에 의해서는 약 63~49% 정도 감소하여 강활 수침액이 B(a)P에 의한 간독성으로 증가한 활성을 감소시키는 역할을 하였다. 또한 간세포 손상에 기인하는 ALT 활성의 증가는 보통 AST 활성 증가와 동반된다 (Mohan *et al.*, 1989). 간에 존재하는 aminotransferase는 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행되고 있다는 사실을 나타내며, 결과적으로 혈중으로 이 효소를 방출케 되어 혈청 효소의 활성 증가를 야기시키는데, 이는 간세포의 변성 및 괴사의 지표가 된다 (Zimmerman, 1981). LDH 활성도는 강활 수침액 투여로 정상군보다 약 1.4배, B(a)P투여는 약 2.8배 증가를 나타내었으며, 증가한 효소활성은

수침액 전처리로는 약 29%, 후처리에서는 약 50% 정도 현저한 감소작용을 보였다. 한편 ALP 활성도는 수침액 단독투여군은 정상군과 거의 비슷하였으며 B(a)P투여는 약 2배 정도 활성증가를 보였다. 그리고 강활 수침액 전처리와 후처리는 약 40%와 42% 정도의 감소를 보여 정상군과 거의 비슷한 활성도를 나타내었다.

2. 간 조직에서의 효소활성에 미치는 영향

실험적 간손상을 일으킨 흰쥐 간조직 중의 효소 활성도 변화에 미치는 강활 수침액의 영향은 Table 2와 같다. 강활 수침액 단독투여는 간조직의 aminotransferase 활성도에 별다른 영향을 미치지 못하였으나, B(a)P 투여는 AST 활성을 약 4배, ALT 활성은 약 3배 증가시켜 간의 손상정도가 아주 심한 것으로 나타났다. 반면 강활 수침액의 전처리는 약 61~52%, 후처리로는 약 62~54% 정도로 감소시켜 전·후처리의 결과가 거의 비슷하였다. LDH 활성도는 강활 수침액 단독투여군은 약 1.3배, B(a)P 투여는 약 2.5배 증가하였으며, 증가한 효소활성도는 강활 수침액 전처리로 약 20% 후처리는 약 33%의 활성감소를 보였다. 한편 ALP 활성도는

Table 3. The effects of *Angelica koreana* water extract on serum lipid contents in benzo(a)pyrene treated rats

	Total cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride	Phospholipid
Normal	35.2±7.32	29.0±6.19	96.6±7.14	77.3±4.38
<i>Angelica koreana</i>	41.8±3.86	24.9±5.54	93.7±4.52	85.9±6.18
Benzo(a)pyrene	57.2±8.77*	21.2±7.06	72.1±5.92	101.6±10.61*
Pretreatment	53.0±6.17*	25.2±9.70	72.6±3.40	98.0±9.29
Posttreatment	52.8±1.44*	18.1±1.31	78.3±1.00	95.2±7.05

Values are mean±S.D. of 8 rats. All units: mg/dL. *Angelica koreana* extract (50 mg/kg/day) was given orally for 2 weeks before/after benzo(a)pyrene treatment (0.1 mg/kg, i.p.). *p<0.05. AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase

B(a)P 투여로 약 5.3배의 높은 활성증가를 보였으며 전처리는 약 14%, 후처리는 약 20%의 근소한 감소를 보였다. Cholestasis는 ALP의 합성과 방출을 촉진시키며, bile salt의 축적이 세포 표면으로부터 ALP 방출을 증가시킨다 (Schlager *et al.*, 1982). 간손상에 대한 강활 수침액의 효과는 혈청 효소와 간조직에서 거의 유사한 결과를 나타내었다.

3. 혈청의 지질함량에 미치는 영향

혈청 총지질은 주로 cholesterol과 cholesterolester, phospholipid 그리고 triglyceride로 구성된다. 혈청 cholesterol의 약 70%가 ester화된 것인데, 이 ester화가 주로 간에서 일어나서, 혈청 cholesterol 함량 측정이 간 기능 시험에 자주 적용된다. B(a)P를 투여하여 간장해를 유발한 흰쥐 혈청중의 지질함량 변화에 미치는 강활 수침액의 영향을 검토한 결과는 Table 3과 같다. Total cholesterol 함량은 B(a)P 투여로 정상군과 비교할 때, 약 62% 정도 증가하였다. 반면 증가한 함량은 강활 수침액 전처리와 후처리에서 약간의 감소를 보였다. 한편, HDL-cholesterol은 수침액 후처리군만이 정상군 보다 약 60% 정도의 감소를 보였으며 별다른 유의성이 없었다. Triglyceride 함량은 강활 수침액 투여로 정상군과 비슷하였으나, B(a)P투여로 오히려 약 25%의 감소를 보였다. 그리고 강활 수침액 전처리와 후처리군도 B(a)P 투여군과 거의 비슷한 함량 변화를 보였다. Phospholipid 함량은 수침액 투여로 정상군에 비하여 변화가 없었지만, B(a)P 투여로 약 31% 정도 증가하였다. 이는 세포막의 구성, 구조와 안정성의 변화를 일으키고, 결과적으로 세포막 기능 이상을 초래케 된다 (Kehrer *et al.*, 1990). 증가한 phospholipid 함량은 강활 수침액 전처리와 후처리에

의하여 약간 감소하였지만 유의성은 없었다.

결론

본 연구는 민간에서 소염 진통제로 널리 쓰이는 강활의 생리활성 물질 검색 및 간손상에 미치는 영향을 관찰할 목적으로 실행되었다. 실험동물에 다환방향족 탄화수소이며 환경공해물질인 B(a)P를 복강 투여하여 유도한 간손상에 미치는 강활 수침액의 효과를 알아보고자 혈청과 간조직에서 효소 활성도 및 혈청에서 지질함량의 변화를 측정하였다. B(a)P의 투여에 의하여 혈청과 간 조직의 AST, ALT, LDH 및 ALP 활성은 유의성 있게 증가하였으며, 강활 수침액은 증가한 효소활성을 회복시켰다. 한편 B(a)P의 투여에 의하여 혈청 total cholesterol과 phospholipid 함량은 증가하였지만 triglyceride 함량은 오히려 감소하였다. 따라서 강활 수침액은 B(a)P의 투여로 야기된 간 실질세포의 손상과 혈청 AST, ALT, ALP 활성증가로 암시된 담즙 분비 기능 이상 등의 간독성 (Baraona *et al.*, 1980)에 대해 긍정적인 보호효과를 가지는 것으로 사료된다.

참고 문헌

- Baraona E, Pikkarainen P, Salaspuro M, Finkelman F and Lieber CS. Acute effects of ethanol on hepatic protein synthesis and secretion in the rat, *Gastroenterol.* 1980; 79: 104.
- Chi HJ and Kim HS. Studies on essential oils of plants of *Angelica* genus in Korea (IV)-Essential oils of *Angelica*

- koreanae Radix, Kor. J. Pharmacogn. 1993; 24(2): 111-115.
- Cho JY, Lee JS, Park JS and Park MH. Isolation of inhibitory components on tumor necrosis factor- α production from *Angelica koreana*, Yakhakhoeji. 1998; 42(2): 125-131.
- Fischman ML, Cadman EC and Desmond S. Occupational cancer. Occupational medicine. Norwalk, CT: Appleton and Lange. 1990; 182-208.
- Kehrer JP, Jones DP, Lemasters JJ, Farber JL and Jaeschke H. Mechanisms of hypoxic cell injury, Toxicol. Appl. Pharmacol. 1990; 106: 165-178.
- Kind PRM and King EJ. Estimation of plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with amino antipyrine. J Clin Pathol 1954; 7: 322-326.
- Kwon YS, Woo ER and Kim CM. A study of on the constituents of bioactive fractions of *Ostericum koreanum* Kitagawa, Kor. J. Pharmacogn. 1991; 22(3): 156-161.
- Lee JK and Woo WS. Coumarine constituents from the roots of *Angelica koreana*, Kor. J. Pharmacogn. 1982; 13(1): 10-13.
- Mohan Rao GM, Morghom LO, Kabar MN, Benmohamud BM and Ashibani K. Serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvate transaminase (GPT) levels in diabetic mellitus. Indian J Med Sci, 1989; 5: 118-122.
- Moon YH, Go JJ and Park JY. The antiinflammatory and analgesic activities of Gumiganghwaltang, Kor. J. Pharmacogn. 1999; 1: 18-24.
- Osborne MR, Beland FA, Harvey RG, and Brookes P. The reaction (+/-)-7 α , 8 β -dihydroxy-9 β , 10 β -epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydrobenzo(a)pyrene with DNA, Int J Cancer. 1976; 18(3): 362-368.
- Reitman S and Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. Am J Clin Pathol 1957; 28: 56-63.
- Rhee JK, Woo KJ, Baek BK and Ahn BJ. Screening of the wormicidal Chinese raw drugs on *Clonorchis sinensis*, Am J Chin Med. 1981; 9(4): 277-284.
- Ryu KS and Yook CS. Pharmacognostical study on the root of *Angelica koreana*, Yakhakhoeji. 1968; 12(3-4): 50-58.
- Ryu SY, Kou NY, Choi HS, Ryu H, Kim TS and Kim KM. Cnidicine a coumarine, from the root of *Angelica koreana*, inhibits the degranulation of mast cell and the NO generation in RAW264.7 cells, Planta Med. 2001; 67(2): 172-174.
- Sarkers SD and Nahar L. Natural medicine, the genus *Angelica*, Curr Med Chem. 2004; 11(11): 1479-1500.
- Schlager R, Haux P and Kattermann R. Studies on the mechanism of the increase in serum alkaline phosphatase activity in cholestasis: significance of the hepatic bile acid concentration for the leakage of the alkaline phosphatase from rat liver, Enzyme. 1982; 28(1): 3-13.
- Seo EK, Kim KH, Kim MK, Cho MH, CHOI, Kim K and Mar W. Inhibitors of 5 α -reductase type I in LNCaP cells from the roots of *Angelica koreana*, Planta Med. 2002; 68(2): 162-163.
- Suk KD. Studies on the umbelliferous rhizoma and root (III). The original plant of Korean Quinghuo (Gangwhal), Kor. J. Pharmacogn. 1976; 7(1): 25-33.
- Takayama M, Itoh S, Nagasaki T and Tanimizu I. A new enzymatic method of determination of serum choline-containing phospholipids. Clin Chim Acta. 1977; 79(1): 93-98.
- Weinstein IB, Jeffrey Am, Jennette KW, Blobstein SH, Harvey RG, Harris C, Autrup H, Kasai H and Nakanishi K. Benzo(a)pyrene diol epoxides as intermediates in nucleic acid binding in vitro and in vivo, Science. 1976; 193(4253): 592-595.
- Wolf PL. Biochemical diagnosis of liver disease. Indian J Clin Biochem 1999; 14: 59-65.
- Yook CS and Ryu KS. Coumarine components in the fruits of *Angelica koreana*, Kor. J. Pharmacogn. 1970; 1(2): 77-78.
- Zimmerman HJ. Chemical hepatic injury and its detection. In toxicology of the liver. Plaa GL, Hewitt WR, eds. Raven Press, New York. 1981; 22: 1-45.