

## 사염화탄소로 유발된 간독성에 대한 오미자 Schizandrin C 유도체 DDB 복합물 DWP-04의 예방효과

이정희 · 지상철<sup>1</sup> · 김석환<sup>2</sup> · 신영호<sup>3</sup> · 박희준<sup>4</sup> · 최종원\*  
경성대학교 약학대학, <sup>1</sup>성균관대학교 약학대학, <sup>2</sup>동아대학교 식품영양학과,  
<sup>3</sup>(주)대우약품, <sup>4</sup>상지대학교 자원식물학과

### Preventive effect of a Schizandrin C derivative DDB-mixed preparation (DWP-04) against hepatotoxicity induced by Carbon Tetrachloride

Jung-Hee Lee, Sang-Cheol Chi<sup>1</sup>, Seok-Hwan Kim<sup>2</sup>, Young-Ho Shin<sup>3</sup>,  
Hee-Juhn Park<sup>4</sup>, and Jongwon Choi\*

College of Pharmacy, Kyungsoong University, Busan 608-736, Korea  
<sup>1</sup>College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea  
<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Dong-A University, Busan 604-714, Korea  
<sup>3</sup>Dae Woo Pharmaceutical Ind. Co. Busan 604-031, Korea  
<sup>4</sup>Division of Applied plant Sciences, sangji University, Wonju 220-702, Korea

**Abstract** – The protective effects of the DWP-04 [DDB : selenium yeast : glutathione {31.1 : 6.8 : 62.1 (% w/w)}] against hepatotoxicity by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>) were studied in rats. The rats were intraperitoneally injected with CCl<sub>4</sub> (50% in corn oil) at initial dose of 1 ml/kg followed by 0.5 ml/kg 3 times during 1 week. The DWP-04 (50, 100 or 200 mg/kg) or its vehicle was administered everyday before the start of CCl<sub>4</sub> injection for two weeks. CCl<sub>4</sub> induced hepatocellular degeneration and necrosis, which led to a great increase in serum aminotransferase, alkaline phosphatase activity and serum lipid levels. It was found by biochemical analysis that CCl<sub>4</sub> treatment remarkably increased thiobarbituric acid reactive substances and phosphatidylcholine hydroperoxide in hepatic tissues and induced antioxidant enzymes such as catalase and superoxide dismutase (SOD). Liver and serum lipids were significantly lower in rats fed on DWP-04 than in rats induced by CCl<sub>4</sub> only-treatment. These results suggested that the DWP-04 could be a promising candidate for the protection of liver injury based on the preventive effects against lipid peroxidation and serum biochemical parameters.

**Key words** – DWP-04, preventive effect, hepatotoxicity, catalase, superoxide dismutase, carbon tetrachloride

2003년 통계청의 발표에 의하면 우리나라의 평균수명이 76세로 국민소득의 증가와 함께 증가하고 있으나 스트레스, 영양섭취의 불균형, 식습관의 변화 또는 환경오염등으로 성인병이 증가하고 있다. 특히 과도한 스트레스나 음주, 흡연 및 약물로 인하여 간기능의 손상이 점차 빈번하게 일어나고 인체에 치명적인 위협을 가하고 있다. 따라서 이들 간 기능 손상 및 간질환을 부작용이나 재발없이 효과적으로 치료할 수 있는 약제의 개발이 강하게 요구되고 있다. 이에 최근들어 오래전부터 민간요법으로서 간질환에 사용되어온 오미자로부터 독성약물에 의한 간기능 장애에 효과를 나타내

는 Schizandrin C를 발견하였고, 이의 합성물질인 DDB (biphenyldimethyl dicarboxylate)를 합성하는데 성공하였다. 이를 주성분으로 한 제제를 간질환의 치료제로서 개발하여 동물실험에서 사염화탄소나 thioacetamide에 의한 간손상으로 sGOT, sGPT치, 혈청 Bilirubin 등을 감소시켰으며, 간경변에 의한 여러 증상도 일부는 호전케 하였고, 부작용도 일과성인 위장장애 외에는 별다른 것을 관찰할 수 없어 간질환 치료제로 널리 사용되어지고 있다.<sup>1,2)</sup> Glutathione은 glutamic acid, cysteine 및 glycine을 기질로 사용하여  $\gamma$ -glutamyl-cysteine synthetase에 의해서 합성된 황 함유 분자를 가진 대표적인 생체 항산화물질로서 단백질의 분해나 합성, DNA의 합성 및 thiol기의 저장 등에 직접 관여하며,<sup>3,4)</sup> 생리적인

\*교신저자(E-mail) : jwchoi@ks.ac.kr  
(FAX) : 051-628-6540

로 중요한 여러 가지 해독반응에 직간접으로 작용하는데, glutathione peroxidase에 의한 반응이나, 비효소적으로 직접 유리기 소거 반응에 관여하기 때문에 유리기에 의한 세포 손상의 방어에 glutathione의 역할은 대단히 중요한 것으로 알려져 있다.<sup>5,6)</sup>

사람과 동물의 적혈구 안에 있는 glutathione peroxidase의 구성성분인 셀레늄<sup>7,8)</sup>은 자연계에 유험과 함께 존재하는데, 간과 신장에 가장 많은 양이 존재하며 혈액, 근육, 뼈에는 소량 함유되어 있다. 셀레늄의 기능은 효소의 구성성분으로 작용하며 결핍시 효소의 활성도가 급격히 감소하는 현상이 나타나며, 이 효소는 적혈구의 막과 세포막을 과산화물로부터 보호해주기 때문에 이 효소의 부족 시에는 세포막의 장애가 초래될 수 있다. 약물과 독성 물질로부터의 보호능력을 갖는 간장의 질병 또는 괴사를 일으키는 원인으로는 바이러스, 독성 약물 또는 기타 많은 인자들이 있다. 그들 중 용제로 사용되는 CCl<sub>4</sub>는 microsomal mixed function oxidase에 의해 생성된 trichloromethyl radical이 단백질 thiol기와 결합되어 막의 지질과산화 반응촉진과 간의 기능을 파괴하여 장해를 유발시키는 것으로 알려져 있다.<sup>9,10)</sup> 이에 본 연구에서는 DDB와 glutathione, selenium yeast를 혼합한 혼합제제(DWP-04)의 간기능 예방효과의 기전을 추궁할 목적으로 CCl<sub>4</sub>로 간장해를 유도한 후 혼합제제를 투여하여 간독성 예방효과를 관효과를 검색한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**시료제조** - DWP-04의 조제는 DDB : selenium yeast : glutathione을 31.1 : 6.8 : 62.1(w/w%) 비율로 혼합하였으며 각각의 시료는 (주)대우약품에서 공급받아 사용하였다.

**실험동물 및 실험설계** - 실험 동물은 대한 BioLink(충북 음성)로부터 분양 받아 본 대학 동물사에서 일정한 조건(온도 : 22 ± 1°C, 습도 : 55 ± 3%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 1주 동안 고형 사료로 적응시킨 체중 200 ± 10 g

의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였다. DWP-04는 2% Tween 80에 현탁(50, 100, 200 mg/kg)하여 CCl<sub>4</sub> 노출 2주전부터 매일 경구투여하였다. 한편 CCl<sub>4</sub>는 corn oil에 50%(v/v)로 희석하여 DWP-04 투여 1주후에 1 ml/kg을 단회 투여한 다음 2일 간격으로 0.5 ml/kg으로 3회 투여하고 마지막 투여 24시간 후에 처치하였으며 실험동물은 처치 전 12시간동안 사료를 제거하고 물만 섭취케 하였다.

**혈액 성분의 측정** - 혈청생화학적 검사는 실험동물을 CO<sub>2</sub> gas로 마취하여 개복하고 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액을 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하였으며, 이를 -20°C에 즉시 보관하여 분석에 사용하였다. Total protein (TP), albumin, aspartate/alanine aminotransferase (AST/ALT), alkaline phosphatase(ALP), creatinine, blood urea nitrogen (BUN)의 분석은 clinical spectrophotometer(Shimadzu, CL-770, Japan)을 사용하였다. 혈중 지질함량의 측정에서 total cholesterol 함량의 측정은 Richmond등의 효소법<sup>11)</sup>으로, Triglyceride 함량의 측정은 McGowan등의 방법,<sup>12)</sup> High density lipoprotein-cholesterol(HDL-C)함량의 측정은 Noma 등의 효소법<sup>13)</sup>으로, Low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) 함량과 Very Low density lipoprotein-cholesterol (VLDL-C)의 함량은 Utermann등의 방법<sup>14)</sup>에 따라 다음의 식에 의하여 산출하였다. LDL-C=[총콜레스테롤양-(HDL-C+Triglyceride양/5)], VLDL-C=[총콜레스테롤양-(HDL-C+LDL-C)]

**간조직에서의 변동** - 간조직 중 지질함량은 Frings등의 방법<sup>15)</sup>에 준하여 total lipid 함량측정, total cholesterol 함량의 측정은 Richmond 등의 효소법<sup>11)</sup>으로, triglyceride 함량의 측정은 McGowan 등의 방법<sup>12)</sup>으로 측정하였다. 한편 간조직의 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 함량측정은 Buege와 Aust의 방법,<sup>16)</sup> phosphatidylcholine hydro-peroxide(PCOOH)의 함량 측정은 Blight와 Dyer 방법에 준하였고,<sup>17)</sup> superoxide dismutase (SOD) 활성의 측정은 Yoshihiko의 방법,<sup>18)</sup> Catalase활성의 측정은 Aebi의 방법<sup>19)</sup>에 준하여 측정하였다.

**Table I.** Effect of DWP-04 on serum biochemical values of rats exposed to carbon tetrachloride

Treatment (mg/kg)	TP (g/dl)	Albumin (g/dl)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	Creatinine (mg/dl)	BUN (mg/dl)
Vehicle	6.3±0.2 <sup>a</sup>	3.2±0.2 <sup>a</sup>	113.5±23.5 <sup>a</sup>	67.8±10.5 <sup>a</sup>	243.8±43.7 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>a</sup>	21.3±3.1 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	5.3±0.5 <sup>c</sup>	2.9±0.3 <sup>a</sup>	986.7±123.0 <sup>d</sup>	543.7±113.4 <sup>c</sup>	597.8±57.6 <sup>c</sup>	0.7±0.1 <sup>a</sup>	34.0±4.4 <sup>c</sup>
+DWP-04(50)	5.7±0.3 <sup>b,c</sup>	3.1±0.4 <sup>a</sup>	754.7±176.3 <sup>a,b</sup>	387.2±162.7 <sup>b,c</sup>	375.3±66.8 <sup>b</sup>	0.5±0.2 <sup>a</sup>	28.4±2.5 <sup>b,c</sup>
+DWP-04(100)	5.9±0.2 <sup>a,b</sup>	3.3±0.2 <sup>a</sup>	542.0±153.1 <sup>b,c</sup>	311.6±97.2 <sup>b</sup>	364.1±87.0 <sup>b</sup>	0.6±0.1 <sup>a</sup>	25.1±5.2 <sup>a,b</sup>
+DWP-04(200)	6.0±0.2 <sup>a,b</sup>	3.0±0.3 <sup>a</sup>	494.9±134.8 <sup>c</sup>	281.7±56.3 <sup>b</sup>	294.9±46.3 <sup>a,b</sup>	0.5±0.2 <sup>a</sup>	23.8±3.2 <sup>a,b</sup>

Values represent mean±S.D. (n=9). Values followed by the same letter are not significantly different from vehicle(p<0.05). TP: total protein, AST : aspartate aminotransferase, ALT: alanine aminotransferase, ALP : alkaline phosphatase, BUN : Blood urea nitrogen.

**단백질 정량 및 통계처리** - 단백질 정량은 bovine serum albumin(Sigma Fr.IV)을 표준품으로 하여 Lowry등의 방법<sup>20)</sup>에 따라서 측정하였으며, 실험결과는 평균치±표준편차로 표시하였고 통계적 유의성은 Duncan's new multiple range test를 이용하였다. P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

**결 과**

**혈액학적성상에 미치는 영향** - DWP-04 제제가 사염화탄소에 의해 유발된 간손상에 대한 영향을 살펴 본 바(Table I) CCl<sub>4</sub>의 투여하고 DWP-04(50, 100, 200 mg/kg)를 처리한 결과 AST, ALT 및 ALP의 함량이 DWP-04 혼합제를 2주간 전처리하고 사염화탄소를 투여함으로써 사염화탄소에 의하여 현저히 증가되던 각 효소의 활성이 감소되는 경향을 관찰할 수 있었다. 한편, TP와 albumine은 CCl<sub>4</sub>에 의해 큰 영향을 받지 않았다. 혈청내 BUN은 CCl<sub>4</sub>에 의하여 증가되던 것이 DWP-04의 투여로 용량 의존적으로 완화되었으며, creatinine은 CCl<sub>4</sub>에 영향을 받지 않았다.

**혈액 및 간조직의 지질함량 변동** - DWP-04 제제가 사염화탄소에 의해 유발된 혈액 및 간조직 중의 지질함량의 변동을 관찰한 성적이 Table II, III, IV이다. CCl<sub>4</sub>의 투여하고 DWP-04를 처리한 결과 혈액중 중성지방의 함량이 사염

**Table II.** Effect of DWP-04 on the serum lipids in carbon tetrachloride-induced rats

Treatment (mg/kg)	Triacylglycerols (mg/dl)	Cholesterol
Vehicle	51.1±9.81 <sup>a</sup>	68.0±9.83 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub>	110.1±20.1 <sup>c</sup>	78.4±3.27 <sup>a</sup>
+DWP-04(50)	87.8±19.6 <sup>b,c</sup>	73.6±2.43 <sup>a,b</sup>
+DWP-04(100)	75.6±3.96 <sup>a,b</sup>	70.8±3.41 <sup>a,b</sup>
+DWP-04(200)	70.7±6.03 <sup>a,b</sup>	65.3±4.29 <sup>a</sup>

Values represent mean±S.D. (n=9). Value followed by the same letter are not significantly different from vehicle (p<0.05).

**Table III.** Effect of DWP-04 in changes induced by carbon tetrachloride in the serum lipoprotein in the rat

Treatment (mg/kg)	HDL	LDL	VLDL
	(mg/dl)		
Vehicle	34.4±4.12 <sup>a</sup>	12.4±1.20 <sup>c</sup>	53.2±4.18 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub>	33.8±6.53 <sup>c</sup>	17.4±1.18 <sup>a</sup>	58.6±3.27 <sup>a</sup>
+DWP-04(50)	36.5±5.63 <sup>b,c</sup>	19.5±2.17 <sup>a</sup>	54.0±5.29 <sup>a</sup>
+DWP-04(100)	40.8±7.21 <sup>a,b</sup>	14.2±1.49 <sup>b</sup>	48.0±2.43 <sup>a</sup>
+DWP-04(200)	38.3±4.25 <sup>a</sup>	13.8±1.33 <sup>b,c</sup>	49.9±3.33 <sup>a,b</sup>

Values represent mean±S.D. (n=9). Value followed by the same letter are not significantly different from vehicle (p<0.05).

**Table IV.** Effect of DWP-04 on changed induced by carbon tetrachloride on liver lipids

Treatment (mg/kg)	Total lipids	Triacylglycerols	Cholesterol
	mg/g wet weight		
Vehicle	38.7±2.6 <sup>a</sup>	1.30±0.47 <sup>a</sup>	0.89±0.20 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub>	50.0±4.6 <sup>c</sup>	2.90±1.05 <sup>b</sup>	1.92±0.40 <sup>a</sup>
+DWP-04(50)	46.3±2.2 <sup>b,c</sup>	1.86±0.27 <sup>a,b</sup>	1.78±0.37 <sup>a</sup>
+DWP04-(100)	43.7±2.5 <sup>a,b</sup>	1.67±0.10 <sup>a</sup>	1.62±0.47 <sup>a</sup>
+DWP04-(200)	40.1±1.9 <sup>a</sup>	1.53±0.23 <sup>a</sup>	1.33±0.23 <sup>a,b</sup>

Values represent mean±SD(n=9). Value followed by the same letter are not significantly different from vehicle (p<0.05).

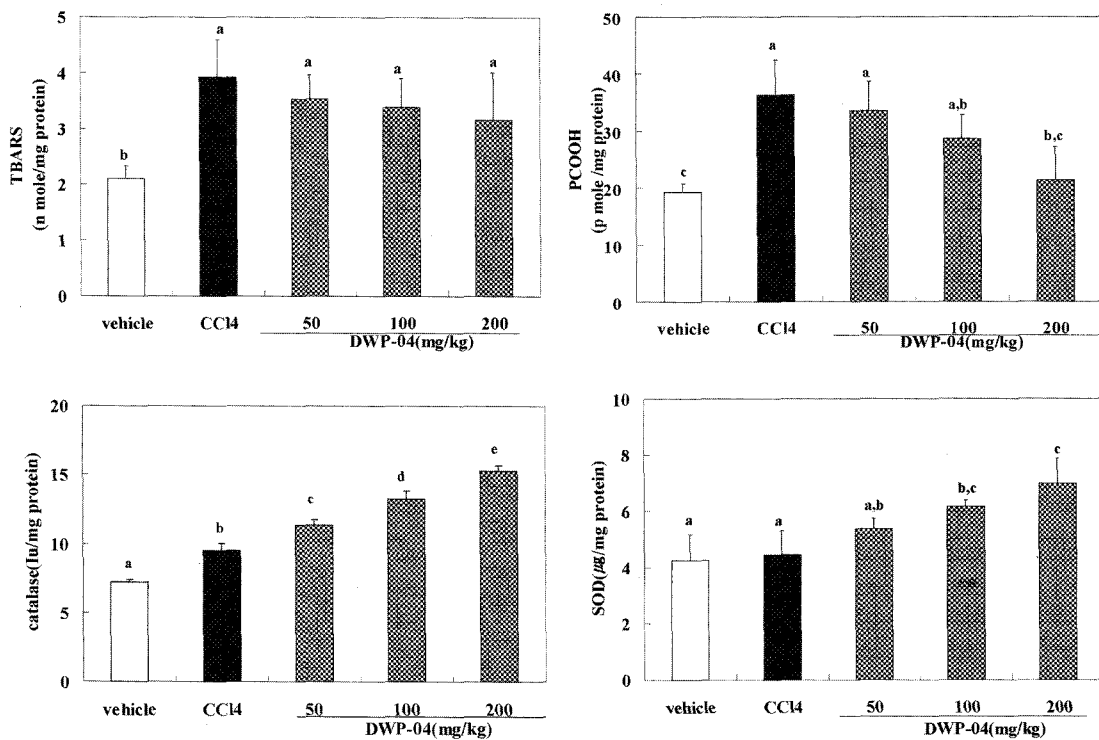
화탄소의 투여로 현저히 증가되던 것이 DWP-04의 투여로 현저히 억제되었으며 혈중 지질의 이동형인 lipoprotein인 LDL-, VLDL-cholesterol의 함량이 사염화탄소의 투여로 증가되던 것이 DWP-04의 투여로 억제되었다. HDL-cholesterol의 함량은 사염화탄소의 투여로 억제되던 것이 DWP-04의 투여로 증가되었다. 한편 혈중 cholesterol의 함량에는 별다른 영향이 없었다.

간조직 중 지질함량의 변동에서도 혈중 지질의 함량변동과 유사하게 사염화탄소의 투여로 현저히 증가되던 것이 DWP-04의 투여로서 유의성 있게 억제되었다.

**지질과산화물 및 항산화효소의 활성도에 미치는 영향** - DWP-04 제제가 사염화탄소에 의해 유발된 지질과산화 및 항산화효소의 활성도에 미치는 영향을 관찰한 성적이 Fig. 1이다. 지질과산화물인 TBARS와 산화적 손상물인 PCOOH의 함량이 사염화탄소의 노출에 의하여 약 180% 상승하였다. 그러나 이러한 TBARS와 PCOOH의 함량 증가는 DWP-04의 투여에 의하여 용량의존적으로 억제되었다. 특히 100, 200 mg/kg의 투여에서 유의성 있게 억제되었다. 항산화효소인 catalase와 SOD 역시 사염화탄소의 투여로 다소 증가되었으나, DWP-04의 투여로 현저히 완화되는 경향을 보였다.

**고 찰**

간독성을 유발하는 산업장 유해물질의 일종으로 간장 독작용을 유발하는 사염화탄소(carbon tetrachloride)의 간장 독작용의 작용기전은 확연히 규명되어 있지 않으나 생체 세포막내의 smooth endoplasmic reticulum의 복합산화기구에 의하여 reactive metaboite인 trichlorimethyl free radical (·CCl<sub>3</sub>)로 대사되거나 혹은 ·CCl<sub>3</sub>가 O<sub>2</sub>와 반응하여 생성된 Cl<sub>3</sub>C-O-O·로 산화되어 세포막의 polyunsaturated fatty acid를 과산화시킴으로써 막의 구조와 기능을 파괴한다고 보고되어 있다. 일반적으로 생체조직 세포의 손상은 생체막 구성성분인 polyunsaturated fatty acid의 과산화가 그 한 가지



**Fig. 1.** Effect of DWP-04 on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of rats exposed to carbon tetrachloride. Values represent mean±SD(n=9). Value followed by the same letter are not significantly different from vehicle (p<0.05).

TBARS: thiobarbituric acid-reactive substances

PCOOH: phosphatidylcholine hydroperoxide

SOD: superoxide dismutase

요인으로 지적되고 있는데<sup>21)</sup> 지질의 과산화는 생체 외적인 요인 뿐만 아니라 내적인 요인(oxygen free radical generating system)에 의하여 생성된 oxygen free radical(O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>·OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)들 때문에 야기되며, 세포의 성분이나 기질, 특히 불포화지방산이 다량 존재하는 생체막에 연쇄적인 과산화적 손상을 입힌다. 또한 생체는 free radical의 독작용을 저지시켜주는 free radical scavenging system이 존재하고 있어 여러 가지 손상으로부터 보호받고 있다. 그러나 어떠한 원인에 의해 free radical generating system과 scavenging system 사이의 불균형이 초래되어질 때에는 조직 손상, 발암, 염증, 성인병 및 노화 등과 같은 여러 가지 독작용이 유발된다고 한다.<sup>22-26)</sup> 이에 본 실험에서는 DWP-04 혼합제제가 사염화탄소에 의해 유발된 간손상에 대한 영향을 살펴 본 바, DWP-04 혼합제를 전처리하고서 사염화탄소 유도 독성에 미치는 혈액 생화학적 효과를 관찰한 결과 혈중 간지표인 생화학적 효소의 활성이 사염화탄소를 투여하브로서 현저히 증가되던 각 효소의 활성이 DWP-04의 투여로 감소되었다. 또한 혈중, 간조직중의 중성지방, LDL-cholesterol 및 VLDL-cholesterol 혈중 함량이 현저히 증가되던 것이 DWP-04의 투여로 감소되었으며, HDL-cholesterol의 함량은 사염화탄소의 투여로 감소되던 것이 정상군 수준으로 회복되었다.

최근 콜레스테롤의 과잉섭취로 인해 일어나는 cholesterol-induced endothelial dysfunction의 기전에 대한 연구결과가 활발하게 보고되고 있다. 그중 특히 LDL의 산화적 변형이 중요한 역할을 하는 것으로 인정되고 있다.<sup>27)</sup> LDL이 혈액 중에 농도상대로 체류하게 되면 혈소판의 응집능을 증가시키며 혈관벽을 손상시키는 거품세포(foam cell) 형성을 자극한다. 따라서 LDL의 산화가 활발하게 진행되고 있는 혈관계에서는 동맥경화의 유발 가능성이 아주 높다. 동맥경화의 초기단계 병변(lesion)에서 보여지는 lipid-laden foam cell은 과잉의 LDL에서부터 유도된 monocyte 또는 macrophage의 변형에 의해 형성된다. 각 조직의 LDL receptor를 통해 조직으로 들어간 LDL은 lysosome효소에 의해 분해된 후 조직의 콜레스테롤 수요를 충족시키는데 이용되기 때문에 거품세포(foam cell)를 형성하지 않지만, 세포내의 콜레스테롤이 일단 충분한 수준으로 충족되면 LDL receptor는 이에 의해 feedback 저해를 받게 된다. 따라서 세포내 LDL receptor 합성이 감소되어 조직세포가 더 이상 LDL을 수용할 수 없게 되며, 그 결과 혈액내 남아 있는 잉여의 LDL들은 화학적 변형을 받아 거품세포(foam cell) 형성에 기여하게 된다. 따라서 세포내 LDL receptor 합성이 감소되어 조직세포가 더 이상 LDL을 수용할 수 없게 되며, 그 결과 혈액내 남아

있는 잉여의 LDL들은 화학적 변형을 받아 거품세포(foam cell) 형성에 기여하게 된다. LDL이 산화적 변형을 거치는 과정에서 생물학적 활성을 지닌 많은 분자들이 만들어지는데 lipoperoxides, isoprostanes, aldehydes와 같은 화합물들이 바로 그러한 분자들이다. LDL의 산화는 lipid peroxide와 oxygen free radical을 증가시키고 이들 분자들은 endothelial cell에 독성을 미치며, 산화된 LDL은 혈관벽에 쉽게 부착되어 혈관세포를 손상시켜 혈관조직을 변형시키고 동시에 변형된 세포의 분열을 촉진시켜 주변의 산화 LDL, 혈소판 및 macrophage가 혈관벽에 더 쉽게 부착되도록 돕는다고 알려져 있다.<sup>28,29)</sup> 이에 본 실험에 사용한 DDB의 복합제제인 DWP-04의 투여는 혈액중의 지질의 함량변동을 조절하는 것으로 생각되어진다.

DWP-04의 항산화효과를 관찰할 목적으로 사염화탄소를 투여하고서 DWP-04를 처리하고 지질과산화 및 PCOOH의 함량을 측정해 본 바 사염화탄소 투여로 정상군에 비해 현저히 증가하던 것이 DWP-04의 혼합제의 전처리로 현저히 감소하였다. 지질과산화 반응의 진행은 생리 조건이 정상인 상태에서는 방어체계의 조절에 의하여 free radical의 생성과 억제에 균형이 유지되어 지질과산화 반응으로 기인된 손상은 일어나지 않지만 세포내 산화적 자극이 증가하여 free radical의 생성 증가나 방어 체계 능력의 감소가 일어났을 때는 생체에 심각한 독성을 나타내게 된다. Lipid peroxide의 생성<sup>30)</sup>은 병태 생리 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 지표로 생체막 구성 성분인 인지질의 불포화 지방산은 활성 산소종과 같은 free radical에 의해 과산화 반응이 시작되며 연속적으로 진행된다. 내외인성 요인에 의하여 생성된 친전자성 물질을 포함하는 free radical에 의한 지질의 과산화 반응은 세포막의 투과성을 항진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 노화 현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리 현상을 초래하는 것으로 알려져 있으며 해독기구의 작용으로 무독화 된다<sup>31-33)</sup>고 한다. 그 중 superoxide dismutase(SOD)는 xenobiotics로 인하여 생성된 superoxide anion을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시키는 효소로 생체내 해독 과정에 관여하는 효소 중 하나이다. 또 catalase는 체내에서 지방의 자동 산화 및 유기물의 산화로 생기는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 H<sub>2</sub>O와 O<sub>2</sub>로 분해하여 무독화 시키는 radical scavenging enzyme로 물로 변환시켜 생성된 활성 산소를 체외로 배설시킨다.<sup>34-36)</sup> 이에 본 실험은 catalase와 SOD를 측정해 본 바 DWP-04의 혼합제 투여로 정상군과 비슷한 경향을 나타내었다. 본 연구 결과 DWP-04는 사염화탄소로 유도된 간조직의 지질과산화 반응 지표인 TBARS 및 PCOOH, 항산화 효소인 catalase 및 SOD, 간세포손상의 혈청생화학적 지표 및 혈중과 간조직의 지질의 함량의 변화 등에 탁월한 방어 효과를 발휘함으로써 간기능 개선을 위한 우수한 약물로서 기대가 된다.

## 결 론

DDB의 혼합제제인 DWP-04의 간기능 개선효과를 검색할 목적으로 실험동물에 사염화탄소를 투여하여 간손상 모델로 하고서 DWP-04의 효능을 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다. DWP-04의 투여는 사염화탄소에 의해 상승된 혈중 간장지표인 transaminase(AST, ALT), ALP의 활성을 현저히 억제하였으며, 혈액 및 간조직중의 중성지방의 함량도 현저히 억제하였다. 혈중 lipoprotein인 HDL, LDL, VLDL-cholesterol이 사염화탄소에 의하여 증가되는 것을 조절하였으며, 사염화탄소의 투여로 증가된 지질과산화물의 생성을 DWP-04의 투여로 억제되었으며 항산화효소인 SOD, catalase의 활성도 DWP-04의 투여로 유의성 있게 활성을 증가시켰다.

## 사 사

본 연구는 2004년도 대우약품주식회사의 지원에 의해 수행되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 인용문헌

1. Wang, X. L. (1894) Clinical effect of DDB pilules on 56 cases of chronic viral hepatitis B. *New Drugs Clinic.* 3: 13-15.
2. Liu, Z., Liu, G., and Zhang, S. (1996) Reversing effect of DDB on the phenotypes of human hepatocarcinoma cell line. *Chung Hua Hsueh Tsa Chih.* 75: 696-678.
3. Anderson, M. E. (1997) Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv. Pharmacol.* 38: 65-78.
4. Anderson, M. E. (1998) Glutathione an overview of biosynthesis and modulation. *Chem. Biol. Interact.* 24: 1-14.
5. Perira, B., Rosa, L. F., Sato, D. A., Bechara, E. J., and Curi, R. (1995) Hormonal regulation of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat macrophages. *Bio. Chem. Pharmacol.* 50: 2093-2098.
6. Imura, T., Ameshima, S., and Miyabo, S. (1995) Glutathione peroxidase. *Nippon Rinsho.* 53: 428-431.
7. Sakurai, H. and Tsuchya, K. (1975) A tentative recommendation for the maximum daily intake of selenium. *Environm Phys. Biochem.* 5: 107-118.
8. Harrison, I., Little john, D., and Fell, G. S. (1996) Distribution of selenium in human blood plasma and serum. *Analyt.* 121: 189-194.
9. Gomez, M. I. and Castro, J. A. (1980) Covalent binding of carbon tetrachloride metabolite to liver nuclear DNA Proteins and lipid. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56: 199-266.
10. Hruszkewycz, A. M., Glende, E. A., and Reckangel, R. O. (1987) Destruction of microsomal cytochrome P-450 and glucose-6-phosphate by lipids extracted from peroxidized

- microsomes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **46**: 695-702.
11. Richmond, W. (1976) Use of cholesterol oxidase for assay of total and free cholesterol in serum by continuous flow analysis. *Clin. Chem.* **2**: 1579-1588.
  12. McGowan, M. W., Artiss, J. D., and Strandbergh, D. R. (1983) A peroxidase-coupled method for the colorimetric determination of serum triglycerides. *Clin. Chem.* **29**: 538.
  13. Noma, A., Nezu, N. K., Kota, M., and Okabe, H. (1978) Simultaneous determination of serum cholesterol in high and low density lipoprotein with use of heparin,  $Ca^{2+}$  and an anion exchange resin. *Clin. Chem.* **24**: 1504-1508.
  14. Ulermann, S., Pruin, N., and Viikari, J. (1979) Rapid increase of glycosaminoglycan in the aorta of hypercholesterolemic rats. *Acta. Physiol. Scand.* **105**: 188-194.
  15. Frings, C. S. and Dunn, R. T. (1970) A colorimetric method for determination of total serum lipids based on the sulfophosphovanillin reaction. *Am. J. Clin. Path.*, **53**: 89-91.
  16. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **52**: 302-310.
  17. Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**: 911-917.
  18. Yoshihiko, O. (1984) Reevaluation of assay methods and establishment of last for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.* **142**: 290-296.
  19. Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. In method in enzymology. *Academic Press, New York*, pp. 121-126.
  20. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the foin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
  21. Toppel, A. L. (1973) Lipid peroxidation damage to cell components. *Fed. Rroc.* **32**: 1870-1874.
  22. Curtis, M. T., Gilfor, D., and Farber, J. L. (1984) Lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes. *Arch. Biochem. Biophys.* **235**: 644-649.
  23. Aykac, G. (1985) The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rat. *Toxicol.* **35**: 71-76.
  24. Chen, L. C., Borges, T., Glauert, H. P., Knight, S. A., Sunde, R. A., and Schramm, H. C. (1990) Modulation of selenium-dependent glutathione peroxidase by perfluorodecanoic acid in rat: effect of dietary selenium. *J. Nutr.* **120**: 198-304.
  25. Sharma, G., Nath, R., and Gill, K. D. (1991) Effect of ethanol on Cd-induced lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat liver. *Biochem. Pharmacol.* **42**: S9-16.
  26. Hemmati, A. A. and Hicks, R. (1999) Increased myofibroblasts contractile sensitivity in paraquat pretreated rat lung tissue. *Life Science*, **65**: 2325-2332.
  27. Adachi, J., Ishii, K., Tomita, M., Fujita, T., Nurhantari, Y., Nagasaki, Y., and Ueno, Y. (2003) Consecutive administration of paraquat to rats induces enhanced cholesterol peroxidation and lung injury. *Arch. Toxicol.* **77**: 353-357.
  28. Barclay, L. R. C., Cameron, R. C., Forrest, B. J., Locke, R., Nigam, R., and Vinqvist, M. R. (1990) Cholesterol: Free radical peroxidation and transfer into phospholipid membrane. *Biochem. Biophys. Acta.* **1047**: 255-263.
  29. Ram, B. S. and Mohammad, A. N. (1999) Serum concentration of lipoprotein decreases on treatment with hydro-soluble coenzyme Q10 in patients with coronary artery disease. *Inter. J. Cardio.* **68**: 23-29.
  30. Bhuyan, K. T., Bhuyan, D. K. and Podos, S. M. (1986) Lipid peroxidation in cataract of the human. *Life Sciences*, **38**: 14363-4171.
  31. Konings, A. W. T. (1987) Effects of heat and radiation on mammalian cells. *Inter. J. Appl. Phys. Chem.* **30**: 339-349.
  32. Llesuy, S. F. and Arnaiz, S. L. (1990) Hepatotoxicity of mitoxantrone and doxorubicin. *Toxicology*, **63**: 187-198.
  33. Shivakumar, B. R., Anandatheerthavarada, H. K. and Ravindrath, V. (1991) Free radical scavenging systems in developing rat brain. *Inter. J. Deve. Neur.* **9**: 181-185.
  34. Nagy, K. and Nagy, I. Z. (1990) The effects of idebenone on the superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in liver and brain homogenates, as well as in brain synaptosomal and mitochondrial fractions. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **11**: 285-291.
  35. Khachik, K. M., Natalie, A. U., Vadim, F., Tatyana, G. M., Irina, N. P., and Alexander, Y. L. (2002) Superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the liver of young and old mice: linear regression and correlation. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **35**: 205-214.
  36. Kabuto, H., Hasuike, S., Minagawa, N., and Shishibori, T. (2003) Effects of bisphenol a on the metabolisms of active oxygen species in mouse tissues. *Environm.* **93**: 31-35.

(2005년 1월 22일 접수)