J Vet Clin 22(3) : 206-213(2005)

흰쥐에서 사염화탄소 투여로 유발된 간 손상에 대한 인진쑥 추출물의 치료효과

이 상 관[1]

경북대학교 수의과대학 수의내과학교실

The Therapeutic Effect of *Artemisia Capillaris* Extract on Hepatic Damage Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Sang-Gwan Lee[1]

Department of Veterinary Internal Medicine, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract : This experiment was conducted to find out the therapeutic effect of *Artemisia capillaris* extracts on hepatic damage in rats induced by carbon tetrachloride (CCl_4). In this experiment, 96 Sprague-Dawley rats were used as experimental groups, which were divided into 4 groups; control group(A), CCl_4-treated group(B), CCl_4+*Artemisia* extract-treated group(C) and CCl_4+silymarin-treated group(D). The B, C, D group were administrated single dose of CCl_4(2.5 ml/kg) to induce acute hepatic injury. C group was administrated with *Artemisia capillaris* extract(200 mg/kg/day) and D group treated with silymarin(50 mg/kg/day) for 7 days. Hematological, ultrasonographical, histological examinations and examination of antioxidant activity were also performed in all groups. AST and ALT activities of C group were significantly decreased compared with B group. The activities of AST and ALT in C and D groups returned to the normal range more rapidly than those of B group. In ultrasonographic examination, the echogenicity of liver in C group was significantly decreased compared with B group. Also C and D group had tended to recover faster than B group on liver histogram. Histologically, the percentage of degenerative regions and degenerative cell numbers in peri-central vein hepatic parenchyma of C and D group were significantly decreased compared with B group. In examination of lipid peroxidation, malondialdehyde of hepatic tissue in C group was decreased as compared with B group. In examination of antioxidant enzyme activity in liver, glutathione peroxidase and catalase activities were significantly increased compared with B group. As results of this study, it is thought that *A. capillaris* extract has therapeutic effects on hepatic injury induced by carbon tetrachloride, and has the similar therapeutic effects as silymarin in rats.

Key words **:** *Artemisia*, catalase, glutathione peroxidase, antioxidant, liver.

서 론

인진쑥(*Artemisia capillaris Thunb*)은 국화과(*Compositae*)의 다년생 초본으로서 일명 애탕쑥이라고도 하며 생약명으로는 인지호, 인진, 추호라고도 불리며 사철쑥(*A. capillaris*), 더위지기(*A. iwayomogi K*), 개똥쑥(*A. annua*), 털산쑥(*A. sacrorum subsp. manshurica K.*), 흰산쑥(*A. sacrorum subsp. manshurica var. vestita K.*), 비쑥(*A. scoparia W. et K.*), 제비쑥(*A. angustssia*) 등으로 분류되고 있다. 인진쑥의 주요 성분으로서는 수분 81.4%, 단백질 5.2%, 지질 0.8%, 당질 4.0%, 섬유질 3.7%, 회분 2.7%와 정유성분 등이 포함된 것으로 알려져 있다.

인진쑥에 대한 연구로는 항산화작용, 간 보호 효과, 항염증 및 진통 효과, 항균작용, 항진균활성, 담즙분비 효과, 당대사 개선 효과, 과산화지질에 대한 효과, 충치억제 효과, 항돌연변이 효과, 항암 효과, 혈압강하작용, 당뇨병 및 고혈당증의 치료 등이 보고 되어 있다[11,14,22,28]. 그 중 항산화 작용에서 활성산소는 활성이 풍부한 산소 종으로 과산화물, 또는 과산화이온, 과산화수소, 수산화 radical, 일중항(O_2^-) 산소를 대표 적인 예로 들 수 있으며, 이들 산소 종은 산화적 스트레스의 원인이 되며 또한 DNA, 단백질, 지질분자의 과산화를 초래하여 돌연변이, 노화, 발암물질 생성 등을 유발한다고 알려져 있다. 이러한 free radical에 의한 세포와 결합조직의 손상을 보호하는 것이 superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase 등의 효소군과 α-carotene, β-carotene, 비타민 C, E, 엽산 등의 비타민으로 알려져 있다. 이 외 flavonoid류의 vanillin과 curcumin 등의 향신료, selenium 또는 아연과 같은 금속류, 마늘에 포함된 많은 유기 황화합물, caffeic acid와 chlorogenic acid 등도 유효 성분으로 알려져 있다. 정상적으로 free radical은 체내 물질대사과정 중 미토콘드리아의 에너지 생성과정에서 형성되거나, superoxide dismutase, glutathione peroxidase 또는 catalase 등에 의하여 해독되지만 만약 superoxide의 과산화수소가 제거되지 않

[1]Corresponding author.
E-mail : joeundog@hanmail.net

으면 수산화 radical과 같은 유해한 free radical의 생성 원인이 된다. 자동산화방지와 노화억제라는 측면에서 연구되고 있는 항산화 효과는 서양의 고추냉이, 겨자와 같은 향신료와 대두와 같은 종실류에서 보고되었다[27]. Soliman 등[24]은 볶은 참깨의 휘발성 물질이 항산화력을 나타낸다고 보고하였고, 김 등[27]은 탈지콩, 참깨 및 들깨박 ethanol 추출물이, Shigezo 등[23]은 파와 마늘에서 항산화 효과를 갖는 물질이 있다고 보고하였으며, Willams 등[18]은 건조된 오렌지에서 항산화 효과가 있다고 보고하였다. Lee 등[15]은 산쑥(*A. montana Pampan*)도 항산화 효과를 나타내며, ethanol 추출물의 항산화성이 가장 높다고 보고하였다.

본 실험에서는 천연물질 중의 하나로서 항산화작용을 가진 인진쑥 추출물 투여에 따른 간 치료효과를 살펴보고자 하였으며, 흰쥐에서 사염화탄소 투여로 간 손상을 유발한 후 혈액학, 초음파, 항산화 작용 및 조직학적 관찰을 통해 현재 사람에서 간 질환의 치료제 및 치료 보조제로 가장 널리 사용되고 있는 실리마린과 비교하여 인진쑥 추출물의 간 치료효과를 확인하고자 실시하였다.

재료 및 방법

실험동물

체중 100±5 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 96두를 구입하여 일주일간 적응 사육시켰으며 사료와 음수는 자유 급식시켰다.

인진쑥 추출물

대구 약전시장의 한약 건재상에서 구입한 건조 인진쑥을 분쇄하여 얻은 분말 100 g에 증류수 1000 ml를 가하여 항온수조(140 rpm, 4시간, 37°C)에서 진탕 후 저온 원심분리기(3,000 rpm, 20분, 4°C)에서 원침하였다. 이 후 상층액을 여과한 추출물을 회전 진공농축기(Heidolph®, Laborota 4000, Germany)에서 농축하여 완전 건조시킨 후 냉동 건조시켜 17 g을 추출하였다.

실리마린

현재 간염 치료제로 널리 사용되는 실리마린(아주 실리마린정®, 아주약품공업주식회사)을 분쇄하여 50 mg을 1 ml 증류수에 용해한 후 sondae를 이용하여 경구 투여하였다.

사염화탄소

사염화탄소(99.5% CCl_4, Oriental Chemical Industries. Korea)를 mineral oil과 1:1 비율로 희석한 후 sondae를 이용하여 경구 투여하였다.

투여방법

실험동물을 일주일간 적응 사육을 시킨 후 대조군(A), 사염화탄소 투여군(B), 사염화탄소와 인진쑥 투여군(C), 사염화탄소와 실리마린 투여군(D)으로 각각 24두씩 4군으로 나누었다. 실험 B, C, D군은 12시간 절식 후 2.5 ml/kg 사염화탄소를 sondae를 이용하여 1회 경구 투여하였으며, A군은 동량 증류수를 투여하였다. 사염화탄소 투여 1일 경과 후 C군은 200 mg/kg 인진쑥을, D군은 50 mg/kg 실리마린을, B군은 1 ml/kg 증류수를 sondae로 1일 1회 경구 투여하였다. 실험 기간 동안 사료와 물은 자유 급여 하였으며 체중, 사료 섭취량 및 음수 섭취량은 매일 측정하였다. 사육실 온도는 22°C, 습도는 50%, 채광은 12시간 명암 조명(09:00~21:00)이 유지되도록 하였다.

시료채취

사염화탄소 투여 후 1일(실험 1일), 인진쑥과 실리마린 투여 후 1일(실험 2일), 2일(실험 3일), 3일(실험 4일), 5일(실험 6일), 8일(실험 9일)에 각 군당 4두를 에테르 마취 후 개복하여 심장천자를 통해 채혈한 다음 간 전체를 적출하였다. 간 조직은 4°C 증류수로 장기 표면에 묻어 있는 혈액을 세척한 후 여지로 남아 있는 수분을 제거한 다음 -70°C 냉동고에 보관하였으며, 조직학적 검사를 위해 간 시료는 10% 중성 포르말린에 고정하였다. 모든 과정은 4°C 이하 cooling room에서 실시하였다.

혈액화학검사

Aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase(ALP), total bilirubin은 헤파린 튜브에 채혈 후 4°C에서 3,000 rpm으로 30분간 원심 분리하여 혈장을 얻은 후 건식 혈액화학 분석기(Spotchem SP-4410®, Kyoto Daiichi Kagaku Co., Ltd. Japan)를 이용하여 측정하였다.

초음파검사

에테르 마취 하에서 6.5 MHz의 linear 탐촉자가 장착되어 있는 초음파 진단기기(SonoAce 9900®, Medison Co., Korea)를 사용하여 검상연골 바로 아래에 위치시킨 후, histogram 분석법을 이용하여 간의 우측 중간엽 단층면과 우측 신피질의 휘도를 측정하였다.

효소원의 조제

적출된 간은 0.9% 생리식염수로 수회 세척하고 수분을 제거한 후 각 간엽에서 일정량(2 g)을 취하여 조직 1 g당 0.25 M sucrose용액을 5배 가하고 빙냉 상태에서 마쇄하였다. 마쇄액은 1차 원심분리(2,590 rpm, 10분)하여 상층액을 취한 후 2차 원심분리(10,600 rpm, 20분)하여 mitochondria 분획을 얻었다. 이 후 상층액을 38,700 rpm으로 1시간 초원심분리(Beckman®, Optima TLX-120, USA)하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 분리하였다. Mitochondria 분획을 0.25 M sucrose용액에 현탁시킨 후 재 원심분리하여 얻은 침전물을 취하여 소량의 0.25 M sucrose용액에 재현탁시켜 catalase 활성 측정에 사용하였으며, cytosol 분획은 glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성 측정에 사용하였다.

간 조직의 지질과산화물 측정

Poly unsaturated fatty acids(PUFA)가 분해되어 발생하는 malondialdehyde(MDA)는 과산화 반응 정도를 측정하는 편리한 index로 사용된다. MDA는 thiobarbituric acid(TBA)와 반응하는 지질과산화물(thiobarbituric acid-reactive substances, TBARS)로서, Ohkawa 등[20]의 TBARS 측정법을 적용하였다. 간 조직이 20%(w/v)가 되도록 1.15% KCl 용액으로 분쇄하고 조직 분쇄물 0.2 ml에 8.1% SDS 용액 0.2 ml, 증류수 0.6 ml를 첨가하여 실온에서 5분 정도 방치한 다음, 20% acetic acid(pH 3.5) 1.5 ml, 0.8% TBA 1.5 ml을 넣어 충분히 혼합한 다음 95°C에서 1시간 동안 가열하였다. 가열 후 실온에서 식혀 증류수 1 ml와 n-butanol : pyrimidine (15:1) 용액 5 ml를 첨가하고, 4,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA 표준용액은 tetramethoxypropane (TMP)을 가수분해하여 제조하였다. 즉, 1 mmol TMP를 0.01 N HCl 100 ml에 녹여 50°C에서 60분간 가열한 후 실온에서 냉각시켜 MDA로 가수분해시켰고 0.01 M Na_3PO_4 buffer(pH 7.0) 100 ml로 희석하여 MDA 표준용액(1×10^{-4} M)을 제조하였다. 제조된 표준용액에 5% TCA (trichloroacetic acid)용액 3 ml에서 90분간 가열한 후 실온에서 식혀 2,000 rpm, 15분간 원심분리한 후 상층액을 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 반응으로 TBA-MDA chromopore 표준곡선을 얻고 이 곡선으로부터 TBA 반응물질의 양을 MDA equivalent로 산출하였다.

Catalase 활성도 측정

Catalase 활성도는 Abei 등[1]의 방법으로 측정하였다. 농도가 50 mM인 potassium phosphate buffer(pH 7.0) 용액 2.89 ml에 기질인 30 mM H_2O_2 0.1 ml를 가하여 25°C에서 5분간 incubation시켰다. 그 후 시료 10 μl를 가하여 3 ml가 되게 한 후 240 nm에서 5분간 흡광도를 측정하였다. H_2O_2의 흡광도 변화와 H_2O_2의 Mol 흡광계수로 H_2O_2의 농도를 구하여 효소활성도를 계산하였다.

Glutathione peroxidase(GSH-Px) 활성도 측정

GSH-Px 활성도는 Paglia[21]의 방법에 따라 산화형 glutathione (GSSG)이 GR와 NADPH에 의하여 환원될 때 NADPH 흡광도가 340 nm에서 감소하는 정도를 측정하였다. 즉 0.1 M Tris-HCl(pH 7.2) buffer 2.6 ml와 30 mM GSH 0.1 ml를 넣고 6 mM NADPH 용액 0.1 ml에 25 μM H_2O_2를 가한 후 25°C에서 5분간 전반응시켰다. 여기에 세포질 분획 0.1 ml(0.4~0.6 mg 단백량)을 혼합하여 25°C에서 5분간 반응시킨 후 340 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다. 효소활성도 1단위는 1분간 1 nmol의 산화형 NADPH를 생성하는 효소 양을 나타내었다.

조직학적 검사

에테르 마취 하에서 적출한 간을 10% 중성 포르말린에 고정한 후 hematoxylin-eosin으로 염색하여 광학 현미경으로 간 손상 정도를 관찰하였다. 일정한 간 실질 부위에서 percentage of degenerative region (PDR)과 degenerative cell number(DCN)을 광학현미경으로 200배, 400배 시야에서 5부위를 관찰하고 automated image analysis(analySIS Image Processing; SIS, Germany)를 사용하여 계산하였다. PDR은 간 실질 중심정맥 주위 1 mm^2당 관찰되는 변성세포를 백분율로 나타낸 것이며 DCN은 1,000개 세포 중 변성세포 수를 나타내었다.

통계처리

본 실험 결과는 A군과 B군, C군, D군을, B군과 C군, D군을 비교하여 Student's t-test에 의한 유의성($p<0.01$, $p<0.05$)을 검정하였다.

결 과

체중의 변화

대조군(A)에서는 실험 일별 평균 체중이 실험 전(0일)에는 150 g이었으며 일일 평균 체중 증가량은 9.3 g으로 나타났다. 사염화탄소 투여군(B)에서는 실험 1일, 2일, 3일에 각각 143, 137, 144 g으로 실험 전 149 g에 비하여 유의한($p<0.01$) 감소가 나타났다. 인진쑥 투여군(C)에서는 실험 1일, 2일에 각각 146, 140 g으로 실험 전 150 g에 비하여 유의한($p<0.01$) 감소가 나타났으며 실리마린 투여군(D)군에서도 실험 1일, 2일, 3일에 각각 146, 141, 144 g으로 실험 전 150 g에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다.

Aspartate aminotransferase(AST) 활성치의 변화

실험 기간 중 A군의 AST 활성치는 84~92 IU/L이었으며 B, C군에서는 각각 실험 1일, 2일, 3일 및 4일에, D군에서는 실험 1일, 2일, 3일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. B군은 6일에, C군은 4일에, D군은 4일에 정상치로 환원되었다. C군은 실험 2일, 3일, 4일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났으며 D군은 실험 2일, 3일, 4일, 6일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다(Fig 1).

Alanine aminotransferase(ALT) 활성치의변화

A군의 ALT 활성치는 34~38 IU/L이었으며 B군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일에, C, D군은 실험 1일, 2일, 3일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났다. B군은 6일에, C, D군은 4일에 정상치로 환원되었다. C군은 실험 2일에, D군은 실험 2일, 3일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다(Fig 2).

Alkaline phosphatase(ALP) 활성치의 변화

A군의 ALP 활성치는 799~982 IU/L이었으며 B군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일에, C군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일에, D군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일에 A군에 비하여

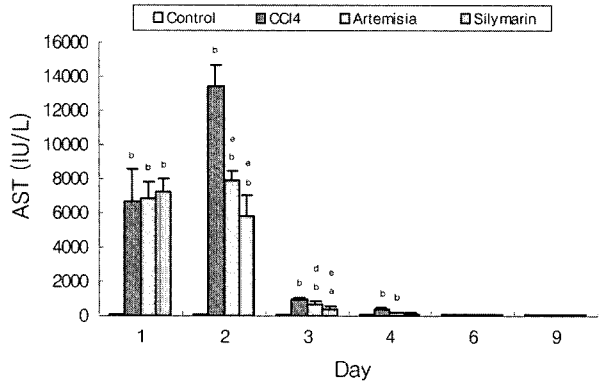

Fig 1. The changes of AST in control group, CCl_4 group, *A. capillaris* extract group and silymarin group. a, b; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with control group. d, e; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with CCl_4 group.

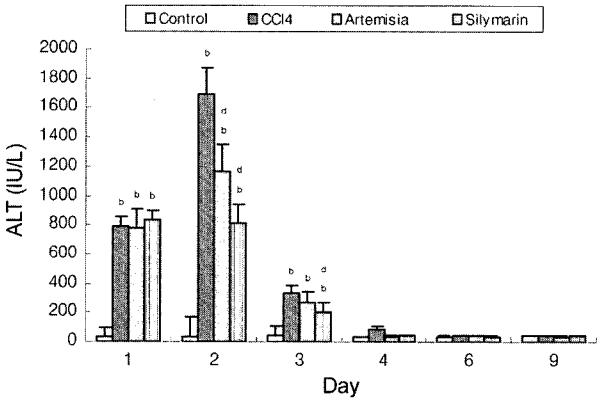

Fig 2. The changes of ALT in control group, CCl_4 group, *A. capillaris* extract group and silymarin group. b; mean significant($p<0.01$) difference compared with control group. d; mean significant($p<0.05$) difference compared with CCl_4 group.

유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났으나 B, C, D군 사이에서는 유의한 변화가 인정되지 않았다.

Total bilirubin 활성치의 변화

A군의 T-bilirubin 활성치는 0.2 mg/dl이었으며 B군은 실험 1일, 2일, 3일에, C군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일에, D군 은 실험 1일, 2일, 3일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. 그러나 B, C, D군 사이의 유의한 변화는 관찰되지 않았다.

간의 초음파 검사

Histogram 수치는 A군에서 73~75이었으며 B군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에, C군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일에, D군은 실험 1일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났다. C군은 실험 2일, 3일, 6일, 9일에, D군은 실험 2일, 3일, 6일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다(Fig 3).

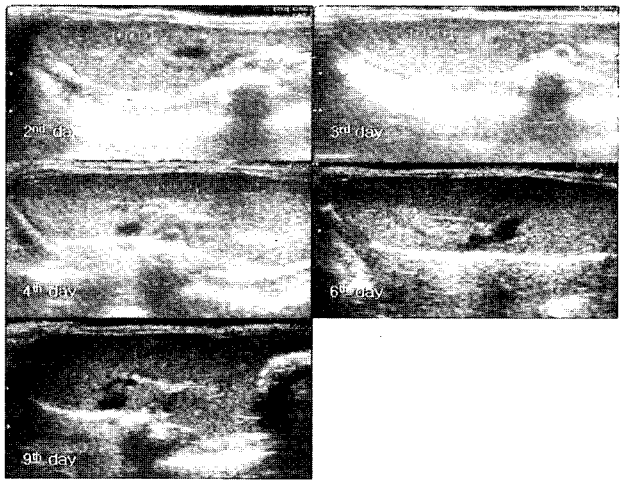

Fig 3. Ultrasonographic images for histogramatic evaluations of liver parenchyma at 2, 3, 4, 6, 9th day in *Artemisia* (C) group. C group has shown an increased echogenicity at 1st day and then kept similar echogenicity till the 4th day, and then shown an decreased echogenicity since 6th day. From the 2nd day after the experiment, C group has kept relatively lower echogenicity than CCl_4 group. And at 6th day, marked decrease of echogenicity in C group was similar as it in control group.

조직학적 검사

실험 1일째 조직학적 변화. A군은 정상적인 hepatic cord와 조직학적 소견이 나타났으며, B군은 중심정맥 주위의 종창 세포와 많은 acidophilic cell이 나타나는 변성이 관찰되었다. C군과 D군에서는 B군에 비하여 변성 세포와 범위가 경미하게 관찰되었다.

실험 2일째 조직학적 변화. B군은 중심정맥주위에 호산성 세포, 종창 세포, 염증세포 등이 관찰되었으며, 변성범위가 실험 1일보다 더욱 심하고 광범위하게 관찰되었다. C군과 D군에서는 B군에 비하여 변성 세포와 범위가 작게 관찰되었다.

실험 3일째 조직학적 변화. B군은 실험 2일에 비하여 변성범위는 비슷하였지만 많은 염증세포가 중심정맥주위에서 관찰되었다. C, D군에서는 염증세포가 관찰되었지만 B군에 비하여 염증세포 침윤범위가 경미하게 관찰되었다.

실험 6일째 조직학적 변화. B군은 말초부위의 많은 경미한 괴사세포와 다소의 소멸세포로 이루어진 변성부위가 관찰되었다. C, D군에서는 B군에 비하여 변성부위가 작고 정상부위가 넓게 나타났지만 변성부위에 있어서 경미한 괴사세포와 소멸세포의 구성은 비슷하게 관찰되었다.

실험 9일째 조직학적 변화. B군은 말초부위의 많은 경미한 괴사세포와 다소의 소멸세포로 이루어진 변성부위가 관찰되었지만 실험 6일보다 변성정도와 변성범위가 감소하였다. C, D군에서는 B군에 비하여 변성부위가 작고 정상부위가 넓게 나타났지만 변성부위에 있어서 경미한 괴사세포와

소멸세포의 구성은 비슷하게 관찰되었다.

중심정맥 주위의 변성세포 백분율(Percentage of degenerative regions in peri-central vein hepatic parenchyma, PDR)

PDR은 A군에서 3.0~6.3%이었으며 B, C, D군에서는 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났으며, C, D군에서는 실험 2일 이후 B군에 비하여 유의한($p<0.01$) 감소가 나타났다(Table 1).

중심정맥 주위의 변성세포 수(Degenerative cell numbers in peri-central vein hepatic parenchyma, DCN)

DCN은 A군에서 14.0~18.3이었으며 B, C, D군에서 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 A군에 비하여 유의한 증가가 나타났으며, C, D군에서는 B군에 비하여 실험 2일 이후 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다(Table 2).

간의 과산화지질 함량의 변화

과산화지질함량은 A군에서 13.4~16.3 μmol/g으로 나타났으며 B, C, D군에서는 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. C, D군에서는 B군에 비하여 실험 2일 이후 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다.

Catalase의 활성변화

Catalase는 A군에서 0.89~0.99 μmol NADPH/min/mg protein으로 나타났으며 B군에서는 실험 1일, 2일, 4일에, C, D군에서는 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. C군에서는 실험 3일, 4일, 6일, 9일에, D군은 실험 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다(Fig 4).

Glutathione peroxidase(GSH-Px)의 활성변화

GSH-Px는 A군에서 0.044~0.054 nmol H_2O_2/min/mg protein으로 나타났으며 B군에서는 실험 1일, 4일, 6일에, C, D군은 실험 1일, 2일, 3일, 4일, 6일, 9일에 A군에 비하여

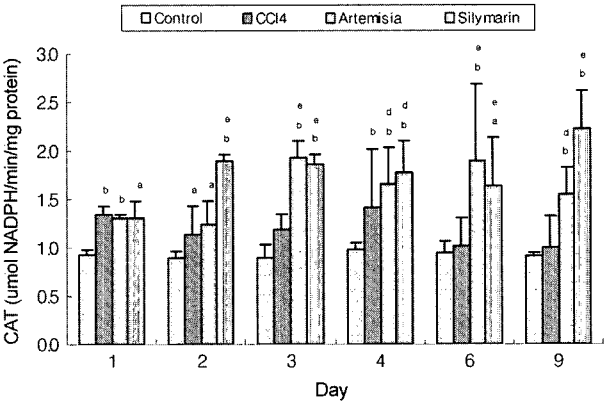

Fig 4. The changes of catalase of liver in control group, CCl_4 group, *A. capillaris* extract group and silymarin group. a, b; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with control group. d, e; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with CCl_4 group.

Table 1. Percentage of degenerative regions (PDR) in peri-central vein hepatic parenchyma (% or N/mm2 of hepatic parenchyma)

Group	Days					
	1	2	3	4	6	9
Control	3.5±1.7	5.3±0.5	6.3±1.5	5.3±1.0	4.5±1.3	3.0±0.8
CCl_4	47.3±1.5^{b}	63.5±4.4^{b}	62.0±2.9^{b}	62.0±2.6^{b}	63.8±5.4^{b}	63.8±4.4^{b}
Artemisia	45.3±4.3^{b}	43.3±4.3^{b,e}	41.5±3.3^{b,e}	41.0±2.4^{b,e}	39.3±3.9^{b,e}	39.0±7.0^{b,e}
Silymarin	46.0±3.9^{b}	48.5±3.1^{b,d}	45.3±4.9^{b,e}	44.8±1.3^{b,e}	43.5±2.1^{b,e}	43.5±3.7^{b,e}

Each value represents the Mean ± S.D of each group. a, b; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with control group. d,e; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with CCl_4 group.

Table 2. Degenerative cell numbers (DCN) in peri-central vein hepatic parenchyma regions (cells/ total 1000 hepatic parenchymal cells)

Group	Days					
	1	2	3	4	6	9
Control	16±4	15±2	14±5	14±3	15±6	18±3
CCl_4	497±44^{b}	779±99^{b}	406±80^{b}	394±57^{b}	326±16^{b}	285±31^{b}
Artemisia	420±41^{b,d}	450±40^{b,e}	257±25^{b,e}	226±6^{b,e}	196±8^{b,e}	121±25^{b,e}
Silymarin	420±37^{b}	436±35^{b,e}	225±19^{b,d}	210±10^{b,e}	192±46^{b,e}	105±28^{b,e}

Each value represents the Mean ± S.D of each group. a, b; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with control group. d,e; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with CCl_4 group.

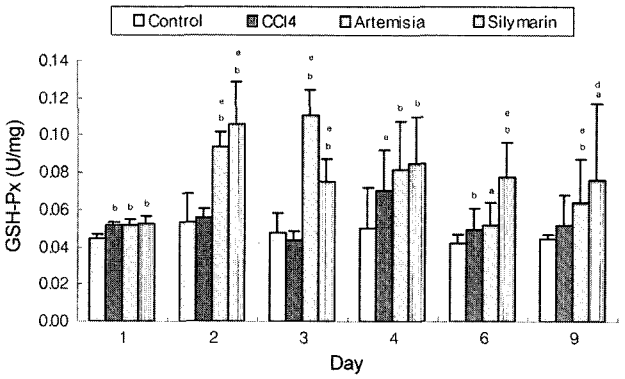

Fig 5. The changes of GSH-Px of liver in control group, CCl_4 group, *A. capillaris* extract group and silymarin group. a, b; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with control group. d, e; mean significant($p<0.05$, $p<0.01$) difference compared with CCl_4 group.

유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났으며, C군에서는 실험 2일, 3일, 9일에, D군에서는 실험 2일, 3일, 6일, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.05$, $p<0.01$) 증가가 나타났다(Fig 5).

고 찰

인진쑥은 국화과에 속하는 다년초로서 사철쑥이라고도 불리며 scoparone(6,7-dimethoxycoumarin), capillarism A, B, capillarisin 및 cirsilineol, cirsimaritin, rhamnocitrin 등이 주요 성분으로 알려져 있다. 인진쑥에 관한 최근의 연구로서는 카드뮴 투여로 인한 세포내 지질과산화를 억제시킴으로써 간 보호작용을 한다는 보고[13]와 인진쑥의 주요 성분 중 하나인 capillarisin이 free radical을 소거하여 tert-butyl-hydroperoxide (t-BHP)에 의한 세포독성과 유전독성을 경감시켰다는 보고 등이 있으며 이 외 간 기능 개선이나 혈관확장작용, 항암 효과, 항돌연변이 효과, 항균 효과 등이 보고되었다[10,14]. 생존을 위한 필수 물질인 산소는 체내의 여러 대사과정에 관여하여 free radical을 생성하여 유해 세균의 살균작용, 노화 단백질의 제거 등에 이용되지만 과량으로 산생되면 오히려 노화나 질병의 원인으로 작용하게 된다. 따라서 최근에는 이의 예방이나 치료를 위해 식용 및 약용 식물 등의 천연물을 통한 free radical 생성억제 작용에 대한 실험들이 많이 보고되었다.

본 실험에서는 흰쥐에 사염화탄소 2.5 ml/kg을 경구 투여 후 7일간 200 mg/kg의 인진쑥과 50 mg/kg의 실리마린을 매일 투여하여 혈액학, 초음파, 항산화 작용 및 조직학적 관찰을 통하여 인진쑥의 간 손상에 대한 치료효과를 알아보고자 실시하였다.

본 실험 결과 대조군의 일일 평균 체중변화량은 +9.3 g으로 나타났으나 사염화탄소 투여군(B), 인진쑥 투여군(C) 및 실리마린 투여군(D)은 각각 실험 1일, 2일에 대조군에 비하여 유의한($p<0.01$) 감소가 나타났다. 이는 사염화탄소 투여로 간 손상으로 인한 식욕부진의 결과로 보여진다.

Kimura 등[11]은 흰쥐에서 과산화 오일 투여로 인한 지질대사 장애시 인진쑥 추출물이 AST, ALT 활성을 억제시켰다고 하였으며 Nam 등[17]도 흰쥐에서 benzo(α)pyrene투여로 인한 간 손상 시 *A. iwayomogi* 에탄올 추출물투여로 혈중 AST, ALT, ALP 활성도가 감소된다고 보고하였다. 본 실험에서 C군의 AST 활성은 실험 2일, 3일, 4일에, D군은 실험 2일, 3일, 4일, 6일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다. 또한 C군의 ALT 활성은 실험 2일에, D군은 실험 2일, 3일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났으며, B군은 실험 6일에, C 및 D군은 실험 4일에 각각 정상치로 환원되었다. 이러한 결과는 흰쥐에서 사염화탄소 투여나 또는 과산화오일투여로 인한 간 손상 시 인진쑥 추출물 투여가 증가된 AST, ALT 수치를 감소시킨다고 한 Kimura 등의 결과와 일치하는 결과로 사료되며 또한 현재 간 치료제로서 널리 사용되고 있는 실리마린과 비교하여서도 단일 성분으로서 급성 간 손상에 대한 탁월한 치료효과를 나타낸 점은 흥미 있는 점이라 하겠으나 인진쑥 내의 어떠한 물질이 이러한 역할을 하는지에 관해서는 앞으로도 지속적인 연구가 이루어져야 할 분야로 생각된다.

Lewis[16], Sung 등[25]은 급성 간염 시 간 문맥의 분지가 광범위해지고 간의 전체적인 에코가 감소한다고 보고하였으나, Foster 등[5]은 간에 지방이 침착될 경우 전체적으로 간의 echo가 증가된다고 하였으며, Kurtz 등[12]은 급성 간염 시 초음파 소견은 문맥 분지들이 현저하고 혈관벽 비후 및 반사성으로서 각도에 따라 반사가 변한다고 하였다. 본 실험에서 간 histogram은 B군은 전 실험 기간 동안 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 에코 증가가 나타났으며 C, D군은 실험 2일, 4일, 6일, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 에코 감소가 나타난 후 투여 전 상태로의 환원도 빠르게 나타난 바 이러한 결과는 사염화탄소 투여로 인한 간의 지질 축적에 의하여 echo 증가가 나타났으나 인진쑥 투여로 투여 전 상태로 빠르게 회복된 것으로도 치료효과가 있음을 간접적으로 확인할 수 있었다.

Chaung 등[2]은 사염화탄소 투여로 유발된 급성 간염 시의 조직학적 병변으로서는 전형적인 중심 소엽성 괴사가 나타난다고 하였으며, Germano 등[7]은 사염화탄소로 인한 아급성 간염 시에는 중심정맥 주위의 염증세포, 결합조직의 침윤 등을 보고 하였다. 본 실험 결과, B군은 실험 1일에 중심정맥 주위에 세포종창과 호산성 세포가 출현하는 세포 변성이 나타났으며, 실험 2일에는 이러한 세포종창, 염증세포, 호산성 세포가 더욱 광범위하게 관찰되었으며, 실험 3일에는 중심정맥 주위에 많은 염증세포가 출현하였다. 이 후 실험 6일에는 portal triad에 다수의 경미한 괴사세포와 약간의 소멸세포로 구성된 변성 부위가 관찰되었으며 실험 9일에는 6일에 비하여 변성의 정도와 범위가 감소되었다. C군 및 D군에서는 B군에 비하여 상대적으로 변성 부위가 작고 정상 부위가 광범위하게 나타났지만 변성부위의 경미한 괴사세포와 소멸세포의 구성은 비슷하게 나타났다. 중심정맥 주위에서 변성 세

포의 백분율인 PDR은 B, C, D군에서는 A군에 비하여 전 실험 기간 동안 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났으며 C군과 D군에서는 B군에 비하여 실험 2일 이후 실험 기간 동안 유의한($p<0.01$) 감소가 나타났다. 중심 정맥 주위에서 1,000개의 간실질 세포 중 변성세포의 수인 DCN은 B, C, D군에서는 A군에 비하여 전 실험 기간 동안 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났으며 C, D군에서는 B군에 비하여 실험 2일 이후 실험 기간 동안 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났다. 이러한 결과는 주관적인 조직 소견을 객관화시키기 위한 방법으로서 본 실험에 적용한 결과, 인진쑥 추출물은 흰쥐에서 사염화탄소로 인한 간 손상 시 간의 조직변성을 감소시키는 것으로 보아 치료효과를 확인 할 수 있었다.

Hwang 등[8]은 사철쑥 에탄올 추출물로부터 분리된 다당류들이 지질과산화 억제작용이 있다고 보고하였으며, Kim 등[9]은 흰쥐에 에탄올을 투여하여 증가된 간 TBA 반응성 물질 함량을 쑥의 물추출물이 지질과산화물을 유효하게 감소시켰다고 보고 하였다. 본 실험결과, B군의 간 과산화지질함량은 전 실험 기간 동안 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났으며 C, D군은 실험 2, 3, 4, 6, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 감소가 나타났으며 이는 인진쑥 추출물의 지질과산화 억제작용으로 인한 것이라고 보고한 황 등의 보고와 일치하는 결과라 사료된다.

Free radical 제거를 위한 물질로는 비타민 A, C, E, glutathione 및 metallothionein 등이 있으며 항산화 효소로는 GR, GSH-Px, catalase 및 SOD 등이 있는 것으로 알려져 있다. SOD는 free radical 생성과정 초기단계에 생성되어 superoxide(O_2)를 H_2O_2로 전환시키며 GSH-Px는 H_2O_2나 유기과산화물의 환원시 GSH를 산화형 glutatione인 GSSG으로 전환시키는 역할을 수행하며, 또한 catalase는 주로 peroxisome 내에 존재하고 GSH-Px와는 다른 양상으로 산화적 스트레스에 대응하는 것으로 알려져 있다. 한편 GSH-Px는 소포체에서 생성된 H_2O_2 등의 과산화물 해독기능에 catalase보다 더 효과적으로 작용하며 과산화수소, 유기과산화물 등을 기질로 사용하는 Se-의존성과 유기과산화물에만 작용하는 Se-비의존성 2종류가 존재한다. Floh[4]는 SOD가 활성산소(O_2^-)를 H_2O_2와 O_2로 전환시켜 활성산소에 의해 유발되는 산화적 손상에 대한 일차적 방어에 관여한다고 하였으며, Lee 등[14]은 산쑥은 caffeic acid, catechol, protocatechuic acid 등과 같은 항산화 효력이 강한 성분이 많이 함유되어 있어 항산화작용이 나타난다고 하였으며, Fujita 등[6]은 인진쑥 추출물 투여 시 GSH-Px는 세포내 mitochondria에 존재하는 효소로서 세포내에 생성된 과산화지질을 환원시키는 작용을 통하여 손상된 세포막을 보호하는 역할을 한다고 하였다. 또한, 임[22]은 참쑥(*A. mongolica*), 사철쑥, 약쑥(*A. vulgaricus*) 에탄올 추출물에 의한 항산화 효과가 0.01% 농도에서 사철쑥, 약쑥, 참쑥 순으로 효과가 나타났다고 보고하였다. Cho 등[3]은 사철쑥과 약쑥 주성분인 scoparone (6,7-dimethoxycoumarine)은 사염화탄소에 의해 유발되는 malondialdehyde 생성을 억제시킴으로서 세포막 손상에 대해 보호작용이 있다고 하였다. Oh 등[19]은 A. asiatica에서 추출한 DA-9601은 항산화 효과와 세포 보호 효과가 우수한 약제라고 보고하였으며, Kim 등[10]은 흰쥐에서 사염화탄소 복강 투여로 유발된 간 손상 시 *A. apiacea* 분획물 투여로 간의 지질과산화물의 감소와 SOD, GSH-Px, catalase의 증가를 보고하였다. 본 실험 결과 B군의 catalase는 실험 1일, 2일, 4일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$) 증가가 나타났으며 C군에서는 실험 3일, 4일, 6일, 9일에, D군에서는 실험 2일, 3일, 6일, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. B군의 GSH-Px는 실험 1일, 4일, 6일에 A군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났으며, C군은 실험 2일, 3일, 9일에, D군은 실험 2일, 3일, 6일, 9일에 B군에 비하여 유의한($p<0.01$, $p<0.05$) 증가가 나타났다. 이상의 결과를 고찰하면 GSH-Px와 catalase는 H_2O_2를 제거하여 reduced glutathione을 oxidative glutathione으로 전환시키는 효소로서 본 실험에서 나타난 유의한 증가는 CCl_4투여로 인하여 다량의 H_2O_2가 생성된 결과 이를 제거하기 위하여 증가한 것으로 사료된다.

본 실험 결과 사염화탄소 투여로 유발된 흰쥐의 간 손상에 있어서 인진쑥 추출물의 투여가 혈액 화학적, 조직학적, 초음파적 검사와 항산화 효소치의 검사 결과 등을 기초로 판단할 때 간 손상에 대하여 치료 효과를 나타낸다는 것을 확인 할 수 있었다. 또한 인진쑥 추출물이 현재 간 치료제로 널리 사용되고 있는 실리마린제와 유사한 치료효과가 있다고 확인한 바, 단일 물질인 인진쑥 추출물의 투여로도 간 손상 시 탁월한 효과를 얻을 수 있을 것으로 사료되며, 아울러 앞으로 성분 분석에 관하여 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 본다.

결 론

본 실험에서는 흰쥐에서 사염화탄소 2.5 ml/kg을 1회 경구 투여하여 급성 간 손상을 유발한 후 7일간 200 mg/kg의 인진쑥(C군)과 50 mg/kg의 실리마린(D군)을 매일 투여하여 혈액학적, 초음파적, 항산화 작용 및 조직학적으로 관찰하였다. 실험 결과 AST, ALT 활성은 C군에서는 B군에 비하여 유의한 감소가 나타났으며 또한 C, D군은 B군에 비하여 정상치로의 환원이 빠른 경향을 나타내었다. 초음파상으로는 C군의 간 histogram은 B군에 비하여 유의한 에코감소가 나타났으며, 정상수치로의 환원도 빠른 경향이 나타났다. 조직학적 소견으로는 PDR과 DCN으로 비교하여 C군은 B군에 비하여 유의한 감소가 나타났으며 C군 및 D군의 변성정도 또한 B군에 비하여 경미하게 나타났다. 간 조직 중의 과산화지질 함량에 있어서 C군은 B군에 비하여 유의한 감소가 나타났다. Catalase에서 C군은 B군에 비하여 유의한 감소가 나타났으며, GSH-Px는 B군에 비하여 유의한 증가가 나타났다.

이상의 실험 결과를 종합하면 인진쑥 추출물은 흰쥐에서 사염화탄소 투여로 유발된 간 손상 시 치료효과가 있을 뿐

아니라 현재 시판되고 있는 간 치료제인 실리마린과 유사한 치료효과를 지닌 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Abei H. Catalase in method of enzymatic analysis. New York: Academic Press. 1974: 673-684.
2. Chaung SS, Lin J, Yu KH, Hsu YF, Yen MH. The hepatoprotective effects of *Limonium sinense* against carbon tetrachloride and beta-D-galactosamine intoxication in rats. Phytother Res 2003; 17: 784-91.
3. Cho MK, Choe SY, Hong SM, Kim BS. Effects of scoparone on liver function. J Korean Soc Food Sci Nurti 1998; 27: 344-349.
4. Floh L. Determination of glutathione peroxidase. In: Handbook of free radicals and antioxidations.in biomedicine. New York: CRC press. 1992: 281-286.
5. Foster KJ, Dewbury KC, Griffith AH, Wright R. The accuracy of ultrasound in the detection of fatty infiltration of the liver. British Journal of Radiology 1980; 53: 440-442.
6. Fujita Y, Uehara I, Morimoto Y, Nakashima M, Hatano T, Okuda T. Studies on inhibition mechanism of caffeetannins isolated from leaves of *Artemisia capillaris* species on lipooxygenase dependent lipid peroxidation. Yakugaku Zasshi 1988; 108: 129.
7. Germano MP, D'Angelo V, Sanogo R, Morabito A, Pergolizzi S, De Pasquale R. Hepatoprotective activity of Trichilia roka on carbon tetrachloride-induced liver damage in rats. J Pharmacol 2001; 53: 1569-1574.
8. Hwang EJ, Kwon JC, Jung CM, Moon JI, Kim SY, Zee OP, Lee KR. Characterization of polysaccharides from *Artemisia capillaris* and *Artemisia sylvatica*. Yakhak Hoeji 1999; 43: 423-428.
9. Kim KS and Lee MY. Effects of *Artemisia selengensis* methanol extract on ethanol-induced hepatotoxicity in rat liver. J Korean Soc Food Sci Nutr 1996; 25: 581-587.
10. Kim KS, Lee S, Lee YS, Jung SH, Park Y, Shin KH, Kim BK. Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of *Artemisia apiacea*. J Ethonophamacol 2003; 85: 69-72.
11. Kimura Y, Okuda H, Okuda T, Hatano T, Agata , Arichi S. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. Effects of extracts of leaves of *Artemisia species* and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. Chem Pharm Butl 1985; 33: 2028-2034.
12. Kurtz AB, Rubin CS, Cooper HS, Nisenbaum HL, Catherine Cole-beuglet, Medoff J, Goldberg BB. Ultrasound findings in hepatitis. Radiology 1980; 136: 717-723.
13. Lee CH, Han KH, Choi IS, Kim CY, Cho JK. Effects of mugort-water extracts on cadmium toxicity in rats. Korean J Food Sci Ani Resour 1999; 19: 188-197.
14. Lee GD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in wormwood(*Artemisia montana* Pampan). J Kor Soc Food Nutr 1992; 21: 17-22.
15. Lee KD, Kim JS, Bae JO and Youn HS. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in Wormwood (*Artemisia montana* Pampan). J Korean soc Food Nutr 1992; 21: 17-22.
16. Lewis E. Screening for diffuse and focal liver disease. The case for hepatic sonography. J Clin Ultrasound 1984; 12: 67-73.
17. Nam SM, Kim JG, Ham SS, Kim SJ, Chung ME, Chung CK. Effects of *Artemisia iwayomogi* extracts on antioxidant enzymes in rats administered benzo(α)pyrene. J Korean Soc Food Sci Nutr 1999; 28: 199-204.
18. Noreen SW, Natholyn DH. Antioxidant activity in dried orange. J Food Sci 1983; 48: 644.
19. Oh TY, Ryu BK, Ko JI. Protective effect of DA-9601, an extract of *Artemisia herba*, against naproxen-induced gastric damage in arthritic rats. Arch Pharm Res 1997; 20: 414-419.
20. Ohkawa H, Ohshi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95: 351-358.
21. Paglia PE, Balentine WN. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. Lab Chin Med 1967; 70: 158-169.
22. Rim SN. Studies on the biological activities *Artemisia*. MS Thesis. Yosei University. 1995: 1-46.
23. Shigezo N, Naohiki Y, Yoshio Y. Antioxidative activities of Allium species. Nippon Shokunin Kogro. Gakkaish 1981; 28: 291.
24. Soliman MA, Ei-Sawy AA, Fadel HM, Osman F. Effect of antioxidants on the volatiles of loasted sesame seeds. J Agric Food Chem 1985; 33: 523.
25. Sung JK, Yoon JH, Lee YW, Chang DW and Lee HC. Ultrasonographic findings of carbon tetra-chloride induced hepatic disease in dogs. Korean J Vet Clin Med 1995; 12: 242-247.
26. Twaij HA, Badr AA. Hypoglycemic activity of *Artemisia herba* alba. J Ethnopharmacol 1988; 24: 123-126.
27. 김은희, 김동중. 탈지 콩, 참깨 및 들깨박의 에탄올 추출물의 콩기름-물 기질에서의 산화억제 효과. 한국식품과학회지 1981; 13: 283.
28. 정재연, 오태영, 이기명, 김도현, 안병옥, 김원배, 김영배, 유병무, 함기백, 김진홍, 조성원. 항산화제 DA-9601에 의한 백서 간섬유화 억제 효과. 대한간학회지 2002; 8: 436-444.