

Gomisin A 및 Gomisin N의 간독성 보호작용

허정행 · 박진구 · 천호준 · 김영식¹ · 강삼식¹ · Tran Manh Hung² · 배기환² · 이선미*
성균관대학교 약학대학, ¹서울대학교 약학대학, ²충남대학교 약학대학

Hepatoprotective Activities of Gomisin A and Gomisin N

Jeong-Haing Heo, Jin-Gu Park, Ho-Jun Cheon, Yeong Shik Kim¹, Sam Sik Kang¹,
Tran Mahn Hung², KiHwan Bae², and Sun-Mee Lee*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

¹College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-747, Korea

²College of Pharmacy, Chungnam National University, Daejeon 305-794, Korea

Abstract – The aim of this study was to investigate the protective activity of gomisin A and gomisin N, bioactive lignan components isolated from *Schizandae Fructus*, on hepatocyte injury induced by carbon tetrachloride(CCl₄, 10 mM), *t*-butyl hydroperoxide(TBH, 0.5 mM), and D-galactosamine(GalN, 30 mM). Primary cultures of rat hepatocyte(18 h culture) were treated with CCl₄, TBH or GalN and various concentrations(0.1, 1, 10, 100 μM) of gomisin A or gomisin N. CCl₄ significantly increased the levels of lactate dehydrogenase(LDH), alanine aminotransferase(ALT), and aspartate aminotransferase(AST). These increases were inhibited by gomisin N. TBH significantly increased the level of AST; an increase that was inhibited by gomisin N. GalN markedly increased the levels of LDH and ALT, and these increases was significantly inhibited by both gomisin A and gomisin N. These results suggest that gomisin A and gomisin N have the hepatoprotective activity.

Key words – gomisin A, gomisin N, *Schizandrae Fructus*, hepatoprotective activity

간은 대사, 분비, 저장, 이화, 합성 등 다양한 기능을 수행하는 인체 내 장기이며, 최근 생활수준의 향상에 따른 식생활의 변화와 복잡한 현대 생활에서 오는 많은 스트레스 및 음주 등 다양한 발병인자로 인한 간장 관련 질환이 날로 증가하고 있으나, 이를 치료하거나 예방할 수 있는 치료제 및 간기능 개선제의 개발이 충분하게 이루어지지 않고 있는 실정이다. 현재 국내외적으로 사용되고 있는 간질환 치료제로는 합성 약물인 인터페론과 malotilate가 있으나 이들은 간독성 물질에 대한 보호작용만으로 그의 유효성을 인정 받고 있는 수준이며, 부작용 또한 빈번히 나타난다. 또한 엉겅퀴의 활성성분인 silymarin과 천연물 유래 합성 간질환 치료제인 biphenyl dimethyl dicarboxylate의 개발로 천연물에 대한 관심이 고조되고 있으나, 대다수의 천연물의 경우 유효 용량뿐 아니라 정확한 약리효과에 대한 기초연구 결과가 미약하며, 특히 그의 활성성분과 효능에 대한 상관연구는 더욱 미진하다.

오미자(*Schizandra chinensis*)는 오미자나무과(*Schizandra-*

ceae)에 속하는 낙엽성 목본인 덩굴성 식물로서 붉은 색의 과실이 식품원료 및 자양, 강장, 진해 및 바이러스성 간염 환자들의 치료에 생약재로서 사용되고 있다.¹⁾ 최근 연구보고에 따르면 오미자 추출물이 항산화 작용^{2,3)}과 항균 작용을 나타낸다고 하며,⁴⁾ 그의 활성성분인 gomisin A가 흰쥐에서 acetaminophen과 lipopolysaccharide로 유도된 간독성을 개선시키며,^{5,6)} gomisin N도 흰쥐에서 항산화 작용을 통해 지질과산화물을 억제하고,^{7,8)} 또한 간암발생^{9,10)}을 억제하며 간재생을 촉진시킨다고 한다.¹¹⁾

현재 사염화탄소(CCl₄), *t*-butyl hydroperoxide(TBH) 및 D-galactosamine(GalN)으로 간독성이 유발된 일차배양 간세포가 간보호 약물의 활성 검색 및 간질환 기전 연구에 생체 외 모델로 널리 사용되고 있다. CCl₄는 일산화 첨가 효소계(mixed function oxidase system)의 활성화에 의해 CCl₃ radical로 활성화 되어 간독성을 유발하며,¹²⁾ TBH는 간세포에서 cytochrome P450 효소에 의해 세포구성물을 산화시킬 수 있는 alkoxy-나 peroxy-로 분해되며, 이러한 산물들이 DNA의 손상을 가져와 결국 간세포를 사멸시킨다.^{13,14)} 또한 GalN은 간세포 내 RNA와 단백질의 합성 억제를 통

*교신저자(E-mail) : sunmee@skku.edu
(FAX) : 031-292-8800

해 간독성을 유발한다.^{15,16)}

따라서 본 연구에서는 CCl_4 , TBH 및 GalN으로 급성 간독성을 유발시킨 일차 배양 흰쥐 간세포를 이용하여 오미자의 활성성분인 gomisin A와 gomisin N의 간장 보호 활성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 - Type I collagen, collagenase type IV, insulin, epidermal growth factor, hydrocortisone, glucagon, antibiotic antimycotics, trypan blue, bovine serum albumin (BSA), methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide(MTT), CCl_4 , TBH 및 GalN 등은 Sigma사(St. Louis, MO., U.S.A.)에서, lactate dehydrogenase(LDH), alanine aminotransferase (ALT) 및 aspartate aminotransferase(AST) assay kit는 (주)아이비디-랩, Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), phosphate buffered saline 등은 GIBCO-BRL사(Grand Island, NY, U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며 기타 일반 시약들은 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

실험동물 - 체중 180-220g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 (주)현대바이오로부터 공급 받아 온도 $23 \pm 1^\circ C$, 상대 습도 $55 \pm 15\%$ 및 300-500 Lux의 조도로 12시간 간격으로 명암이 조절되는 성균관대학교 약학대학 동물 사육실에서 일주일이상 순화시킨 후 육안적 증상을 관찰하여 정상적인 동물만을 실험에 사용하였으며, 고형 사료 및 물은 자유롭게 섭취시켰다.

시료의 추출 및 분리 - 오미자 20 kg에 메탄올을 가하여 $80^\circ C$ 에서 2번 환류 추출한 후 여과하였다. 여과액을 $40-45^\circ C$ 에서 감압 농축하여 메탄올 엑스 4.5 kg을 얻었다. 메탄올 엑스를 증류수 2리터에 현탁시킨 후 hexane, EtOAc 및 BuOH로 순차적으로 분획하였다. 각 분획물들을 농축하여 hexane 분획물(512 g), EtOAc 분획물(554 g), BuOH 분획물(860 g) 및 H_2O 분획물을 얻었다. Hexane 분획물(512 g)을 silica gel column에 걸어 hexane-acetone을 전개용매로 하여 극성을 높이면서 chromatography를 실시하여 6개의 소분획(H1-6)으로 나누었다. H3를 silica gel column에 걸어 hexane-acetone (35:1)을 전개용매로 chromatography하여 gomisin N(7 g)을 분리하였다. H5를 silica gel column에 걸어 hexane:ethyl acetate(8:1과 5:1)를 전개용매로 H5.1과 H5.2로 나누었으며, H5.2를 silica gel column에 걸어 hexane:acetone(7:1)으로 용출시켜 gomisin A(2500 mg)를 분리하였다. Gomisin N과 gomisin A는 백색의 결정으로, mp, IR, UV, 1H NMR과 ^{13}C NMR data가 Ikeya^{17,18)}등이 보고한 것과 동일하였다(Fig. 1).

일차 간세포 분리 및 배양 - 흰쥐의 간세포는 Berry와 Friend의 방법^{19,20)}을 변형한 2단계 collagenase 관류법을 이

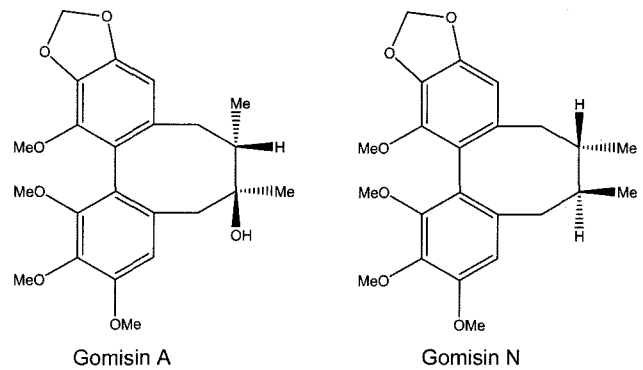


Fig. 1. Chemical structures of gomisin A and gomisin N.

용하여 분리하였다. 흰쥐를 pentobarbital sodium (40 mg/kg, 복강내 주사)으로 마취하여 복부를 개복한 후, 간 문맥에 21 gauge catheter를 삽관하여 CO_2 와 O_2 의 혼합기체를 공급해 주면서 Krebs-Ringer-HEPES 완충용액과 collagenase로 구성된 소화용액을 15 ml/min의 속도로 10분간 재순환시켰다. 간 세포가 소화된 후 간막을 벗겨 간세포가 유리되게 한 다음, nylon mesh를 사용하여 여과하였다. 여과액은 200 rpm에서 3분간 원심 분리한 후 상등액을 버리고 침전된 간세포를 BSA가 함유된 완충용액에 현탁시켜 다시 원심 분리하였다. 침전된 간세포를 배양액에 다시 현탁시켜 세포 현탁액을 얻은 뒤, trypan blue 용액으로 생존율을 측정하여, 생존율이 90% 이상인 경우에만 실험에 사용하였다. 생존율이 90% 이상되면 간세포의 농도가 5×10^5 cells/ml이 되도록 조절하여, collagen type I으로 미리 도포된 배양 용기에 이식하였다. 배양액으로는 10% FBS, 500 U/l insulin, 7 $\mu g/l$ glucagon, 20 $\mu g/l$ epidermal growth factor, 7500 $\mu g/l$ hydrocortisone, 10⁵ U/l penicillin, 100 mg/l streptomycin, 250 $\mu g/l$ amphotericin B를 포함하는 DMEM을 사용하여 일정한 온도와 습도가 유지되는 $37^\circ C$ 배양기에서 O_2 95%와 CO_2 5%의 혼합기체를 공급하여 배양하였다. 배양 4시간 후 새로운 배양액으로 교환하였다.

MTT Assay를 이용한 세포독성 측정 - 간세포를 24 well plate에 세포농도 2.5×10^5 cells/ml로 조절하여 18시간 동안 배양한 후 gomisin A 및 gomisin N을 각 농도별(0.1, 1, 10, 100, 200 μM) 처리한 후 72시간 동안 추가 배양하였다. 72시간 후 MTT(0.25 mg/ml)가 함유된 배양액으로 교환하여 4시간 동안 처리 후 생성된 formazan crystal을 dimethyl sulfoxide(300 μl /well)에 녹여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

CCl_4 에 의한 간세포 독성 유도 - Kiso의 방법²¹⁾을 일부 수정하여 간세포를 배양한지 18시간 후 10 mM CCl_4 를 함유한 배양액에 gomisin A 및 gomisin N을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 24시간 동안 세포를 배양한 후 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

TBH에 의한 간세포 독성 유도 - Tseng의 방법²²⁾을 일부 수정하여 간세포를 배양한지 18시간 후 0.5 mM TBH를 함유한 배양액에 gomisin A 및 gomisin N을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 1시간 동안 세포를 배양한 후 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

GalN에 의한 간세포 독성 유도 - Kiso의 방법²³⁾을 일부 수정하여 간세포를 배양한지 18시간 후 30 mM GalN을 함유한 배양액에 gomisin A 및 gomisin N을 각 농도별(0.1, 1, 10 및 100 μM)로 처리하여 48시간 동안 세포를 배양한 후 그 배양액을 취하여 간세포 보호작용을 알아보았다.

LDH, ALT 및 AST 활성 - 세포 독성이 유도된 간세포의 배양액을 취하여 LDH, ALT 및 AST의 활성을 아이비디-랩 측정 kit인 C121, C123 및 C124를 사용하여 spectrophotometer로 각각 측정하였다.

통계처리 - 모든 측정 결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 실험군 간의 차이는 Dunnett's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 나타내었고, $p < 0.05$ 인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

Gomisin A 및 gomisin N의 IC₅₀ - Gomisin A 및 gomisin N 세포독성 측정과 더불어 농도 범위 결정을 위해 MTT assay를 시행하였다. MTT assay를 시행하여 일차 배양 간세포에서 대조군에 비해 생존율이 50%가 되는 약물의 농도를 측정하였다. 그 결과 Table I에서 보는 바와 같이 gomisin A과 gomisin N의 IC₅₀은 각각 260.7 μM 및 97.2 μM이었다.

Gomisin A 및 gomisin N이 CCl₄로 유도된 간독성에 미치는 영향 - 일차 배양 흰쥐 간세포에서 CCl₄로 간독성 유발시 gomisin A 및 gomisin N의 간세포 보호 작용을 알아보았다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 간손상 지표인 LDH, ALT 및 AST 수치는 CCl₄ 단독군의 경우 대조군에 비해 각각 220.0±8.0%, 255.7±21.4% 및 211.3±16.9%로 현저한 활성 증가를 나타내었다. Gomisin A는 CCl₄로 유도된 LDH 및 ALT 활성증가에는 별다른 영향을 미치지 않았으나

Table I. IC₅₀ Values of gomisin A and gomisin N in primary cultured rat hepatocytes

Compound	IC ₅₀ (μM)
Gomisin A	260.7
Gomisin N	97.2

After isolation and incubation for 18 h, hepatocytes were treated with gomisin A or gomisin N in DMEM for 72 h and the cell viability was evaluated by MTT reduction. IC₅₀ values were determined by viability of hepatocyte cell cultures by 50%.

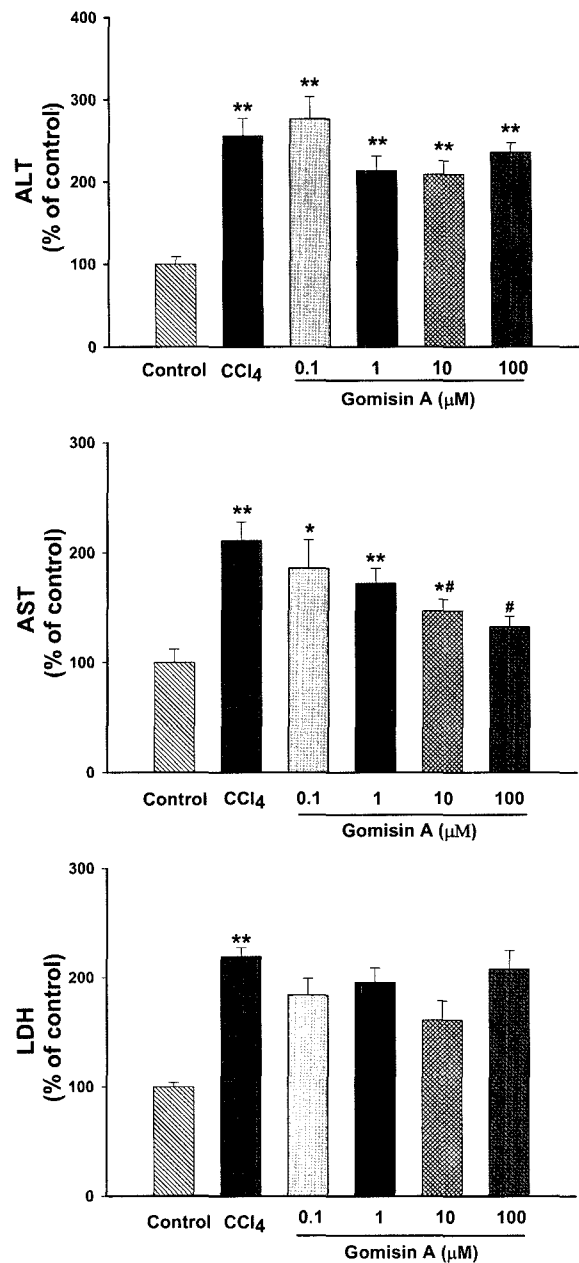


Fig. 2. Hepatoprotective effect of the gomisin A on CCl₄-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means±S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

*,**Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from control group.
#Significantly different ($p < 0.05$) from CCl₄-treated group.

10 μM 및 100 μM의 농도에서 대조군에 비해 146.9±10.6% 및 132.6±9.3%로 AST수치를 현저히 억제하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 gomisin N은 CCl₄ 단독군에 비해 LDH 활성을 0.1, 1 및 10 μM의 농도에서 각각 대조군에 비해 94.4±8.0%, 111.1±16.1% 및 89.8±7.4%로 CCl₄의 처치에

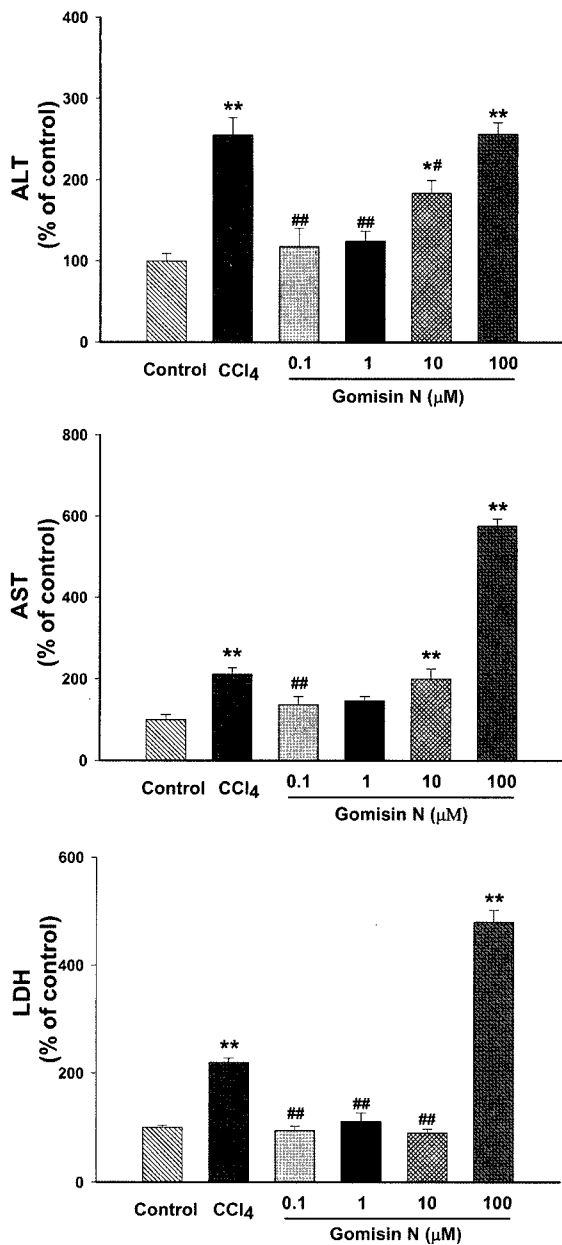


Fig. 3. Hepatoprotective effect of the gomisin N on CCl₄-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means±S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

*,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group.
 #,##Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from CCl₄-treated group.

의한 LDH 활성 증가를 현저히 억제하였으며, 이와 유사하게 ALT 활성도 각각 $118.1 \pm 22.6\%$, $125.0 \pm 12.0\%$ 및 $184.0 \pm 15.6\%$ 로 CCl₄ 단독군에 비해 현저히 억제하였다. 또한 gomisin N 0.1 μM의 농도에서 $130.7 \pm 20.2\%$ 로 CCl₄로 유도된 AST의 활성증가를 현저히 억제하였다.

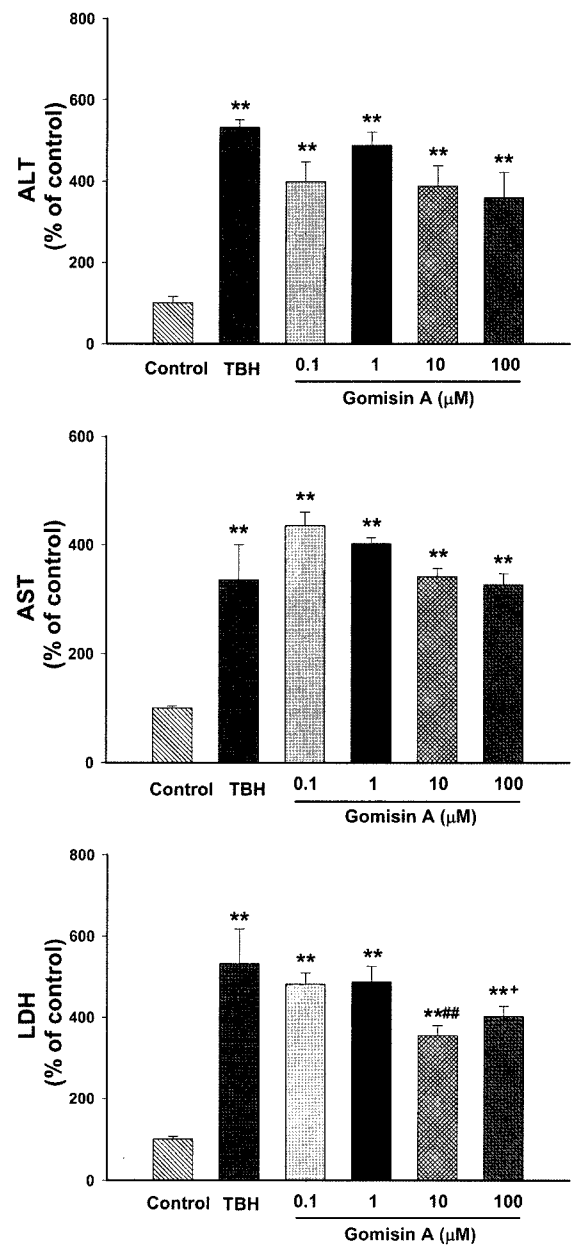


Fig. 4. Hepatoprotective effect of the gomisin A on TBH-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means±S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

*,**Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from control group.
 #,##Significantly different ($p<0.05$, $p<0.01$) from TBH-treated group.

Gomisin A 및 gomisin N이 TBH로 유도된 간독성에 미치는 영향 - Fig. 4에서 보는 바와 같이 LDH, ALT 및 AST 활성은 TBH의 단독군의 경우 대조군에 비해 각각 $531.8 \pm 85.8\%$, $531.8 \pm 18.7\%$ 및 $335.5 \pm 64.4\%$ 로 현저한 활성 증가를 나타내었다. 이러한 LDH 활성 증가는 gomisin

A 10과 100 μM 의 농도에서 대조군에 비해 각각 $355.3 \pm 24.0\%$ 및 $403.1 \pm 23.8\%$ 로 현저히 억제되었으나, TBH로 유도된 ALT 및 AST 활성 증가에는 별다른 영향이 없었다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 gomisin N은 TBH의 처치로 인해 유도된 LDH 및 AST 활성에는 별다른 효과가 없었으

나, ALT 활성은 gomisin N 0.1, 1 및 100 μM 의 농도에서 TBH 단독 처리군에 비해 각각 $390.9 \pm 15.8\%$, $331.8 \pm 13.6\%$ 및 $436.4 \pm 28.8\%$ 로 현저히 감소하였다.

Gomisin A 및 gomisin N이 GalN으로 유도된 간독성에 미치는 영향 - Fig. 6에서 보는 바와 같이 LDH, ALT

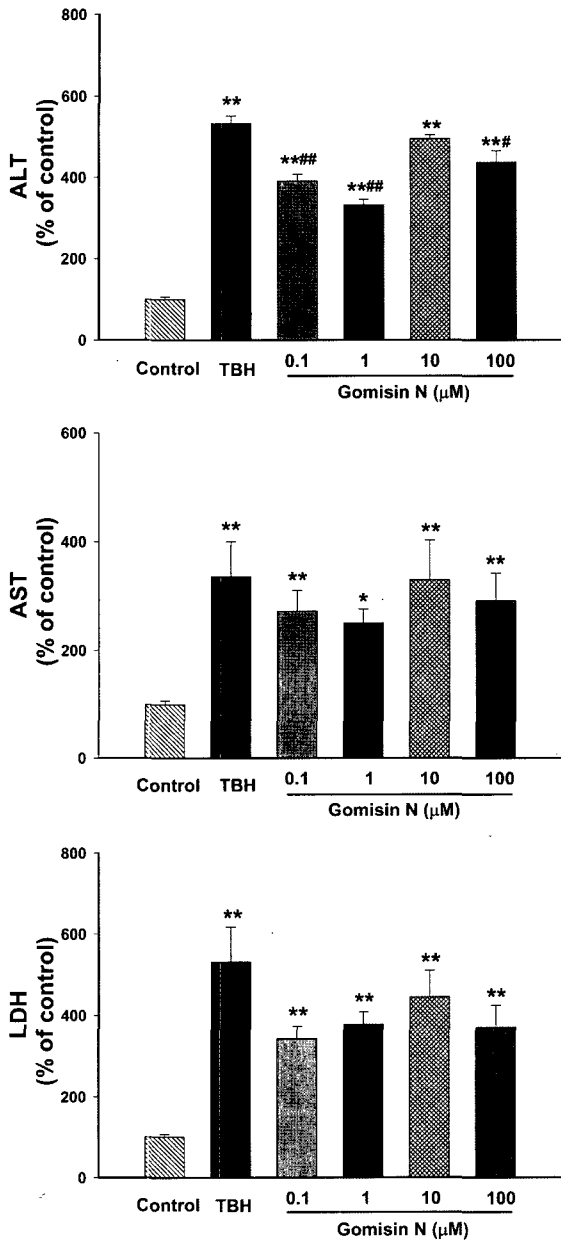


Fig. 5. Hepatoprotective effect of the gomisin N on TBH-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means \pm S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

***Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from control group.
 #, #, #Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from TBH-treated group.

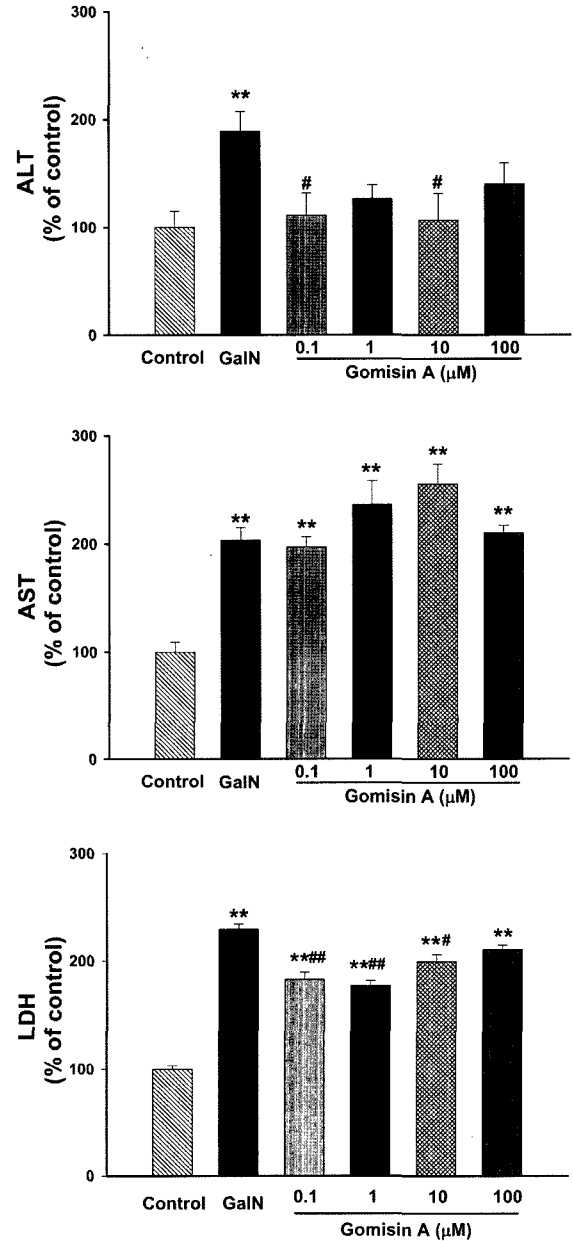


Fig. 6. Hepatoprotective effect of the gomisin A on GalN-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means \pm S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

**Significantly different ($p < 0.01$) from control group.
 #, #, #Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from GalN-treated group.

및 AST 활성은 GalN의 단독군의 대조군에 비해 각각 $229.2 \pm 5.2\%$, $188.9 \pm 18.6\%$ 및 $203.5 \pm 11.5\%$ 로 현저한 활성 증가를 나타내었다. Gomisin A는 0.1, 1 및 10 μM 의 농도에서 대조군에 비해 각각 $182.6 \pm 6.8\%$, $176.9 \pm 4.7\%$ 및 $199.2 \pm 6.4\%$ 로 GalN으로 유도된 LDH 활성 증가를 현저히

억제하였으며, 이와 유사하게 0.1 및 10 μM 의 농도에서 대조군에 비해 각각 $111.1 \pm 20.5\%$ 및 $106.7 \pm 24.5\%$ 로 ALT 활성을 현저히 억제하였다. 그러나 GalN의 처치로 인해 유도된 AST 활성에는 별다른 효과가 없었다. Fig. 7에서 보는 바와 같이 gomisin N은 GalN 단독군에 비해 0.1과 1 μM 의 농도에서 $179.4 \pm 5.0\%$, $186.1 \pm 9.2\%$ 로 LDH의 활성 증가를 현저히 억제 하였으며, 이와 유사하게 AST 활성도 대조군에 비해 $123.2 \pm 8.8\%$ 및 $110.1 \pm 5.3\%$ 로 현저히 억제하였다. 또한 gomisin N은 1 및 10 μM 의 농도에서 대조군에 비해 $112.0 \pm 19.6\%$ 및 $112.0 \pm 15.0\%$ 로 GalN 단독군에 비해 ALT 활성을 현저히 억제하였다.

고찰

간은 당, 단백질, 지방 등의 물질대사의 중심으로 체내에 들어온 생체 외 물질(xenobiotics)을 산화, 환원, 가수분해 및 포합반응을 통해 체외로 배설하는 기능을 담당하며, 혈액의 흐름이 매우 풍부한 기관으로 혈류를 통해서도 독성물질의 침투가 용이하다. 간질환은 환경의 오염, 음주, 병원체의 감염 및 당뇨병과 같은 대사성 질환 등 여러 가지 요인에 의하여 발생된다. 간질환 치료를 위한 연구는 전세계에 걸쳐 널리 이루어지고 있으며, 간질환 및 간염의 이환율이 높은 동양권에서 많은 연구가 이루어지고 있다. 특히 한국인에 있어서 만성 간질환의 경우 암, 당뇨병과 함께 발생 빈도가 매우 높고, 간암에 의한 사망률은 세계에서 가장 높은 것으로 조사되고 있다. 현재 간질환 치료제는 그 질환의 심각성에 비해 치료제의 종류가 많지 않을 뿐 아니라 화학물질의 경우 치료 작용에 비해 부작용이 빈번히 발생되며 천연물 유래 물질의 경우 과학적인 검증 없이 주로 민간요법 내지는 한약재로서 사용되고 있는 실정이다. 그러므로 천연물 성분에 대한 보다 과학적인 접근이 필요하며, 이에 본 연구에서는 일차 배양 간세포를 이용하여 오미자로부터 분리된 gomisin A와 gomisin N의 간세포 보호작용에 대해 알아보았다.

먼저 gomisin A와 gomisin N의 일차 배양 간세포에 대한 독성을 알아보기 위해 MTT assay를 수행한 결과 gomisin A는 IC_{50} 가 260.7 μM 로서 비교적 고농도에서도 일차배양 간세포에 독성을 나타내지 않았으나, gomisin N은 IC_{50} 가 97.2 μM 로서 이로 인해 gomisin N의 최고농도인 100 μM 처치 시 ALT, AST 및 LDH 수치가 CCl_4 단독군에 비해 오히려 증가하였다.

CCl_4 는 간세포내의 CYP2E1에 의해 CCl_3 radical로 활성화되어 세포막이나 세포소기관에 존재하는 지질과 단백질들의 구조와 기능을 파괴하여 간독성을 나타낸다. 즉 생성된 radical은 인근 지질막을 공격하여 지질의 과산화물을 일으키거나, radical이 세포의 단백질이나 지질의 거대분자와 결

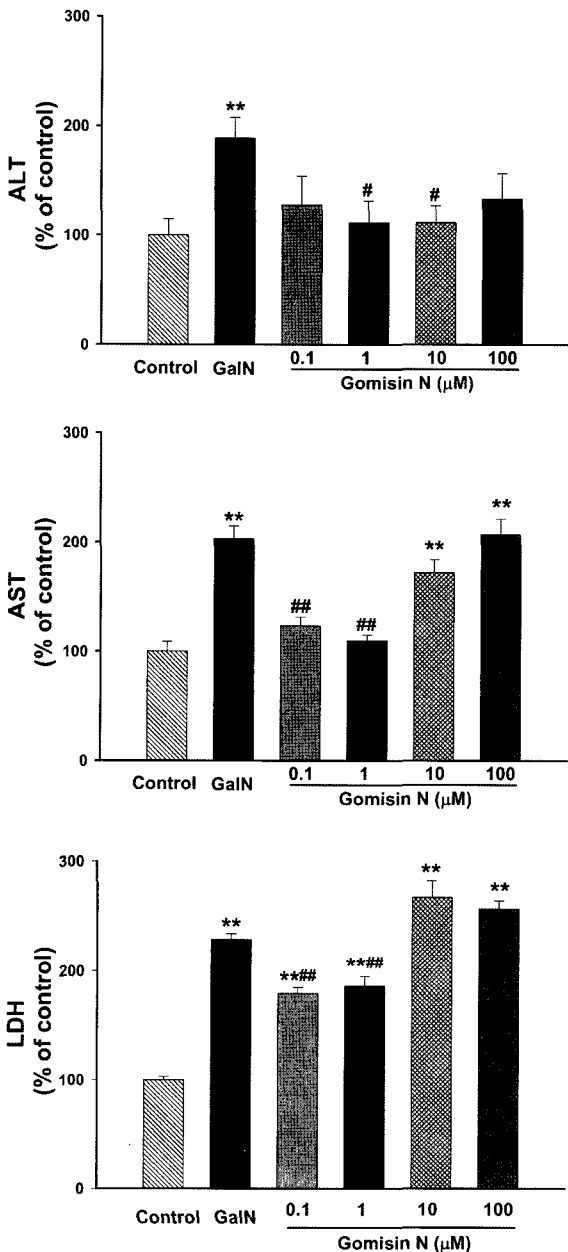


Fig. 7. Hepatoprotective effect of the gomisin N on GalN-induced hepatotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. Results are given as means \pm S.E. from 6 wells each and are expressed as the percent of untreated control of respective experiment.

**Significantly different ($p < 0.01$) from control group.
 ###, Significantly different ($p < 0.05$, $p < 0.01$) from GalN-treated group.

합하여 간의 괴사, 지질침착, 약물대사 효소 활성의 저하 등과 같은 간손상을 일으키고, 소포체의 Ca^{2+} 펌프를 억제하여 세포 내 Ca^{2+} 의 항상성을 저해하여 세포의 죽음을 초래한다고 한다.²⁴⁾ 본 실험결과에서 나타난 바와 같이 gomisin A는 CCl_4 로 유도된 LDH, ALT 및 AST 활성 증가에 별다른 영향을 미치지 않았으나, 이와는 달리 gomisin N 처치 시 CCl_4 로 유도된 간독성을 현저히 억제하였다.

간세포 내에서 TBH는 두가지 경로에 의해 대사된다. 한 과정은 일차 배양된 간 세포 내에서 cytochrome P450에 의해 peroxy 및 alkoxy radical 등과 같은 독성물질로 전환되며, 이러한 radical이 초기 세포막의 지질과산화물을 일으킨다. 또 다른 대사과정은 글루타치온 과산화효소가 TBH와 결합하여 *t*-butyl alcohol과 산화형 글루타치온으로 전환됨으로써 해독되는 과정이다. 이러한 대사과정을 통하여 간세포 내에서 TBH는 radical을 생성하게 되고, 이렇게 생성된 radical이 세포막을 구성하는 불포화 지방산과 직접 및 간접적으로 반응하여 과산화 과정을 통해 간세포의 세포괴사나 세포괴사를 일으킨다. 본 실험결과에서 gomisin A는 비교적 고농도 처치시 LDH의 활성을 낮춤으로써 TBH로 인한 간독성 억제 효과를 뚜렷하게 나타내었으며, gomisin N은 모든 농도 처치 시 ALT의 활성을 낮춤으로써 TBH로 유도된 간독성을 억제하였다.

간세포 내에 GalN의 처치는 인간의 바이러스성 간염과 유사한 간독성을 나타내며, 이는 GalN이 간세포 내에 RNA와 단백질합성 저해를 통해 독성을 유발한다고 한다. 본 실험 결과에서 gomisin A와 gomisin N 모두는 GalN으로 유도된 LDH 및 ALT 활성증가를 억제하였다. 그러나 이와는 달리, gomisin A는 GalN으로 유도된 AST 증가에 별다른 영향을 미치지 않았으나 gomisin N은 AST 활성을 현저히 억제하였다.

이상의 결과를 보아 gomisin A와 gomisin N은 급성 간독성에 대하여 우수한 보호 활성을 가지고 있는 것으로 여겨진다.

사 사

본 연구는 2005년 식품의약품안전청의 한약재 생리활성 성분의 효능확인연구(06082한약효630)의 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

- Ou, M. (1992) China-English Manual of common-used in traditional Chinese Medicine. *Guangdong Science and Technology Press*: Guangzhou 69-70.
- Toda, S., Kimura, M., Ohnishi, M., Nakashima, K., Ikeya, Y., Taguchi, H. and Mitsuhashi, H. (1988) Natural antioxidants IV. Antioxidative compounds isolated from Schizandra fruit. *Jpn. J. Pharmacol.* **42**: 156-159.
- Huang, Y. S., He, Y. and Zhang, J. T. (1990) Antioxidative effects of three components isolated from fruit of Schizandra. *Chinese J. Pharmacol. Toxicol.* **4**: 275-277.
- Lee, S. H. and Lim, Y. S. (1998) Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenetic microorganism. *Kor. J. Food Sci. Nutr.* **27**: 239-243.
- Ohkura, Y., Mizoguchi, Y., Yamamoto, S. and Morisawara, S. (1987) Inhibitory effect of TJN-101 ((+)-(6S,7S,R-biar)-5,6,7,8-tetrahydro-1,2,3,12-tetramethoxy-6,7-dimethyl-10,11-methylenedioxy-6-dibenzo [a,c] cyclooctenol) on immunologically induced liver injuries. *Jpn. J. Pharmacol.* **44**: 179-185.
- Yamada, S., Murawaki, Y. and Kawasaki, H. (1993) Preventive effect of gomisin A, a lignan component of shizandra fruits, on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Biochem. Pharmacol.* **46**: 1081-1085.
- Liu, G. T. (1989) Pharmacological action and clinical use of fructus schizandrae. *Chin. Med. J.* **46**: 740-749.
- Lu, H. and Liu, G. T. (1991) Effect of dibenzo[a,c]cyclooctene lignans isolated from Fructus Schizandrae on lipid peroxidation and anti-oxidative enzyme activity. *Chem. Biol. Interact.* **78**: 77-84.
- Liu, K. T. and Lesca, P. (1982) Pharmacological properties of dibenzo[a,c]cyclooctene derivatives isolated from Fructus Schizandrae chinensis. I. Interaction with rat liver cytochrome P-450 and inhibition of xenobiotic metabolism and mutagenicity. *Chem. Biol. Interact.* **3**: 301-314.
- Ohtaki, Y., Nomura, M., Hida, T., Miyamoto, K., Kanitani, M., Aizawa, T. and Aburada, M. (1994) Inhibition by gomisin A, a lignan compound, of hepatocarcinogenesis by 3'-methyl-4-dimethylaminoazobenzene in rats. *Biol. Pharm. Bull.* **6**: 808-814.
- Mak, D. H., Ip, S. P., Li, P. C., Poon, M. K. and Ko, K. M. (1996) Effects of Schisandrin B and alpha-tocopherol on lipid peroxidation, *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Cell. Biochem.* **2**: 161-165.
- Clawson, G. A. (1989) Mechanism of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathol. Immunopathol. Res.* **8**: 104-112.
- Rush, G. F., Gorski, J. R., Ripple, M. G., Sowinski, J., Bugelski, P. and Hewitt, W. R. (1985) Organic hydroperoxide-induced lipid peroxidation and cell death in isolated hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **78**: 473-483.
- Esterbauer, H., Zollner, H. and Schur, R. J. (1988) Hydroxyalkenals; cytotoxic products of lipidperoxidation. *Science Biochem.* **1**: 311-319.
- Vaca, C. E., Vodicka, P. and Hemminki, K. (1992) Determination of malonaldehyde-modified 2'-deoxyguanosine-3'-monophosphate and DNA by 32P-postlabelling. *Carcinogenesis* **13**: 593-599.

16. Taniguchi, H., Yomota, E., Nogi, K. and Onoda, Y. (2002) Effects of anti-ulcer agents on ethanol-induced gastric mucosal lesions in D-galactosamine-induced hepatitis rats. *Arzneimittelforschung* **52**: 600-604.
17. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi H. (1979) The constituents of *Schizandra chinensis* Baill. V. The structures of four new lignans, gomisin N, gomisin O, epigomisin O and gomisin E, and transformation of gomisin N to deangeloylgomisin B. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 2695-2709.
18. Ikeya, Y., Taguchi, H., Yosioka, I. and Kobayashi, H. (1979) The constituents of *Schisandra chinensis* Baill. I. Isolation and structure determination of five new lignans, gomisin A, B, C, F and G, and the absolute structure of schizandrin. *Chem. Pharm. Bull.* **27**: 1383-1394.
19. Berry, M. N. and Friend, D. S. (1969) High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells: a biochemical and fine structural study. *J. Cell Biol.* **43**: 506-520.
20. Kleinman, H. K., McGoodwin, E. B., Rennard, S. I. and Martin, G. R. (1979) Preparation of collagen substrates for cell attachment: effect of collagen concentration and phosphate buffer. *Anal. Biochem.* **94**: 308-312.
21. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H. (1983) Assay method for antihepatotoxic activity using carbon tetrachloride induced cytotoxicity in primary cultured hepatocytes. *Planta Med.* **49**: 222-225.
22. Tseng, T. H., Wang, C. J., Kao, E. S. and Chu, H. Y. (1996) Hibiscus protocatechuic acid protects against oxidative damage induced by *tert*-butylhydroperoxide in rat primary hepatocytes. *Chem. Biol. Interact.* **101**: 137-148.
23. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H. (1983) Assay method for antihepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary-cultured hepatocytes. *J. Nat. Prod.* **46**: 841-847.
24. Long, R. M. and Moore, L. (1986) Inhibition of liver endoplasmic reticulum calcium pump by CCl_4 and release of a sequestered calcium pool. *Biochem. Pharmacol.* **35**, 4131-4137.

(2006년 10월 2일 접수)