

황금 추출물이 CCl₄ 중독 쥐의 간장기능 회복에 미치는 영향

임상철*

상지대학교 생명자원과학대학

Effects of Baikal Skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) extracts on the recovery of liver function in CCl₄-exposed rats

Sang Cheol Lim*

Dept. of Horticulture and Landscape Architecture, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract - The objective of present study was to investigate the effect of Baikal Skullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi) extracts on recovery of liver function in CCl₄-exposed rats. The values of RBC, Hb and PCV did not show significant difference among all treatment groups. The counts of WBC was lower in Skullcap extracts groups than in control group. The ratio of neutrophils and eosinophiles were decreased, and the ratio of lymphocytes and monocytes were increased with increased administration of Skullcap extracts dosage. The ratio of basophils was, however, not significantly different among all treatment groups. The concentration of plasma total protein and albumin showed no significant difference among all treatment groups. The ratio of albumin/globulin was higher in Skullcap extracts groups than in control group. The activities of GOT, GPT and LDH were lower in Skullcap extracts groups, compared to control group. The liver IL-1 β , IL-6 and TNF- α concentration were decreased, and IL-10 was increased in Skullcap extract groups, compared to control group. Results of this study suggested that Skullcap may alleviate liver inflammatory reaction induced by liver toxicity.

Key words - *Scutellaria baicalensis*, Extract, liver function, liver cytokines

서 언

황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)은 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본으로서 주피(radix)를 벗긴 뿌리를 약용으로 이용한다. 주요 성분은 flavonoid계 화합물들이며, 약 30여종의 성분들이 밝혀졌다(Kim, 2001). 황금의 주요 생리활성기능으로는 항histamin효과(Middleton과 Drzewiecki, 1985), 항간장독(Wagner, 1986), 항균작용(Middleton 등, 1988), 항암작용(Middleton과 Harborne, 1986), 항박테리아활성(Kubo 등, 1981), 항염증효과(Kubo 등, 1984) 등이 밝혀졌으며, 이러한 주요기능들은 대부분이 황금에 내재하고 있는 flavonoid성분들에 의한 것으로 알려져 있다.

간장은 생체 내 물질대사에서 대사중간체의 처리, 저장, 수송 및 해독 등의 중요한 기능을 담당하는 기관이다. 따라서 간장기능이 비정상적 상태에서는 여러 종류의 복잡한

임상적 증후를 나타낸다. 특히 독성물질이 생체에 유입되면 간장기능에 장애를 주게 되고, 백혈구의 neutrophils 및 lymphocytes 등은 민감한 반응을 한다. 또한 transaminase 및 lactate dehydrogenase 등의 혈청효소들의 활성치도 상당한 변화를 나타내며, 간장 내 전염증성 cytokine의 농도에도 변화가 나타난다 (Rabson 등, 2005).

간장질환으로 간장기능이 저하하면 생체 내 영양소 대사에서 대사중간체의 처리, 저장, 수송 및 해독 등에 장애를 일으키고, 이로 인해 생체 내 제 기관들의 기능에 이상을 가져와 여러 종류의 임상적 증후가 나타나게 된다. 간장 질환은 초기단계에서 효과적으로 치료하는 것이 대단히 중요하기 때문에 임상현장에서 치료요법으로 다양한 약품들이 응용되고 있다. 그러나 치료단계에서 이들 약품들은 기능이 약화된 간장에 부담을 주고, 질병상태에 따라 투약을 조절해야 하는 등의 여러 가지의 문제점이 발생했다. 따라서 간장 질환을 효과적으로 치료하고, 부작용이 없는 생약계통의 새로운 약품개발이 필요하다.

*교신저자(E-mail) : sclim@sangji.ac.kr

따라서 본 연구는 새로운 간장질환 치료제의 개발을 위한 기초연구의 일환으로, 생약계통의 소재로 황금의 이용 가능성을 알아보기 위하여 CCl₄로 간장중독을 유도한 쥐에게 황금추출물을 급여한 후 간장기능 회복효과를 검토하였다.

재료 및 방법

시험동물 및 시험군

평균체중이 253.71 ± 7.15g의 Sprague-Dawley계 쥐 수컷 32두를 1주일간 시험식에 적응시킨 후, 평균체중이 유사하게 대조군(생리식염수 100 mg/kg), 처리 1군(황금 추출액 100 mg/kg), 처리 2군(황금추출액 200 mg/kg) 및 처리 3군(황금추출액 300 mg/kg)으로 나누어, 처리군당 8 두 씩 임의 배치했다.

CCl₄ 처리 및 식이방법

시험 초기에 Conc. CCl₄와 올리브 기름을 1:3으로 희석한 용액을 2.5 mg/kg 수준으로 격일로 3회 존대를 이용하여 경구 투여하여 간장중독을 유도했다. 식이 (Table 1) 및 물은 시험기간 3주 동안 자유 급여하였다.

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Basal diet (%)
Casein	20.0
α-Corn starch	35.0
Sucrose	11.0
Lard	4.0
Corn oil	1.0
Mineral mix ^Z	3.5
Vitamin mix ^Y	1.0
Cellulose powder	23.5
DL-methione	0.3

^ZMineral mix. (g/kg diet) : CaCO₃, 29.29; CaHPO₄·2H₂O, 0.43; KH₂PO₄, 34.30; NaCl, 25.06; MgSO₄·7H₂O, 9.98; Feric citrate hexahydrate, 0.623; CuSO₄·5H₂O, 0.516; MnSO₄·H₂O, 0.121; ZnCl₂, 0.02; KI, 0.005; (NH₄)₆ MO₇O₂₄·4H₂O, 0.0025.

^YVitamin mix (mg/kg diet): Thiamine-HCl, 12; Riboflavin, 40; Pyridoxin-HCl, 8; Vitamin-B₁₂, 0.005; Ascorbic acid, 300; D-biotin, 0.2; Menadione, 52; Folic acid, 2; D-calcium pantothenate, 50; P-aminobenzoic acid, 50; Nicotinic acid, 60; Cholin chloride, 2000 (IU/kg diet); Rethinyl acetate, 5000 (IU/kg diet); Cholecalciferol, 250 (IU/kg diet).

황금 추출물 및 급여방법

원주에 소재하는 약업사에서 구입한 양질의 황금 500 g (건조중량)을 적량으로 나누어 수조상에서 냉각수 환류하에서 5시간씩 3회 추출하고, 여과, 감압 농축하여 EtOH 추출물 117 g을 만들었다. 급여는 매일 오후 5시경에 존대를 이용하여 경구 투여했다. 대조군은 동일한 방법으로 생리식염수를 급여했다.

혈액, 간장 채취 및 혈액분석

혈액채취는 시험 종료일에 심장천자법에 의해 채혈했다. 간장채취는 혈액채취가 끝난 직후 적출했다. 혈액 total protein 및 albumin 농도, glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase(GPT) 및 lactate dehydrogenase(LDH) 활성치는 혈액자동분석기(Boehringer Mannheim, 독일)로, Hemoglobin량과 hematocrit치는 각각 Hb-meter와 microhematocrit centrifuge를 사용하여 측정하였다. 적혈구와 백혈구 수는 counting chamber를 이용하여 직접 계수하였다. 백혈구의 구성종류는 Giemsa염색을 한 도말표본을 만들어 검경, 계수하였으며, 구성비는 백혈구 200개를 기준으로 하였다.

간장 Cytokine 정량

간장 cytokine정량용 시료는 1 g의 간장을 채취하여 5 ml의 cold phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4, containing a protease inhibitors cocktail)과 함께 혼합하여 얼음위에서 분쇄(homogenized)하였다. 분쇄혼합물을 4°C, 15,000 rpm, 15분간 원심분리한 후, 상층부를 0.45 μm필터로 여과하고, 다시 원심분리해서 상층부를 -80°C에 냉동 보관했다. Cytokine (IL-1β, TNF-α, IL-6 및 IL-10) 정량은 시판 Kit(Biosource International, USA)를 이용했다. TNF-α의 최저 측정농도는 0.7 pg/ml이며, 다른 cytokine들은 3-8 pg/ml이다. 간장cytokines 량은 5 ml의 PBS에 생 간장 1 g을 혼합한 조정액으로 측정하였으며, pg/mg 단위로 나타내었다.

통계처리

실험결과는 SPSS package를 이용하여 one-way ANOVA 검정을 수행하였으며, 각 처리군간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test에 의해 P; 0.05 수준에서 분석했다.

결과 및 고찰

본 연구는 황금추출물의 간장기능 회복능을 알아보기 위하여, CCl₄로 간중독을 유도한 쥐한테 황금추출물을 급여한 후, 혈액성상, 혈액 내 효소 활성치 및 간장 내 전염증성 cytokines의 농도변화를 검토했다.

Table 2에 각 처리군 별 RBC, Hb 및 PCV의 값을 나타내었다. 간장 중독의 경우, 물질대사의 변화로 물질의 수송

체계인 혈액의 구성에도 다소 변화가 있을 것으로 생각되었으나 본 연구의 결과에서는 특이한 변화를 확인할 수 없었다.

백혈구 총수 및 구성비(Table 3)의 변화를 보면, 백혈구 총수는 대조군과 비교하여 황금추출물 처리군에서 낮은 수치를 나타내었으며, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 하락했다.

일반적으로 생체 내 염증반응으로 백혈구 총수가 증가된

Table 2. Effects of Skullcap radix extracts on RBC counts, Hb concentration, and PCV ratio in CCl₄-exposed rats

Treatment ^Z	RBC (10 ⁶ /mℓ)	Hb (mg/dℓ)	PCV (%)
Control	7.12 ± 0.65	12.41 ± 0.85	42.81 ± 2.55
T _I	7.83 ± 0.71	12.03 ± 0.79	41.95 ± 2.73
T _{II}	6.93 ± 0.66	12.75 ± 0.84	43.81 ± 3.15
T _{III}	7.55 ± 0.82	11.21 ± 0.71	41.59 ± 3.27

^ZControl: CCl₄, T_I: 100 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
 T_{II}: 200 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
 T_{III}: 300 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
 P: 0.05

Table 3. Effects of Skullcap radix extracts on counts of WBC and its composition in CCl₄-exposed rats

Treatment ^Z	Count and Composition ^Y					
	WBC (10 ³ /mℓ)	Neutrophils (%)	Lymphocytes (%)	Monocytes (%)	Basophils (%)	Eosinophils (%)
Control	9.71 ± 1.29 ^b	45.36 ± 3.51 ^b	47.23 ± 4.06 ^a	1.64 ± 0.55 ^a	1.16 ± 0.69 ^a	4.61 ± 0.57 ^b
T _I	9.25 ± 1.31 ^{ab}	43.15 ± 4.16 ^b	49.65 ± 4.73 ^{ab}	2.37 ± 0.51 ^a	1.84 ± 0.59 ^a	2.99 ± 0.62 ^a
T _{II}	8.38 ± 1.17 ^a	38.18 ± 3.77 ^{ab}	54.38 ± 4.25 ^{ab}	3.98 ± 0.57 ^b	1.15 ± 0.47 ^a	2.31 ± 0.53 ^a
T _{III}	7.47 ± 1.05 ^a	35.75 ± 3.14 ^a	55.81 ± 3.91 ^b	3.81 ± 0.44 ^b	2.18 ± 0.53 ^a	2.45 ± 0.49 ^a

^ZControl: CCl₄, T_I: 100 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
 T_{II}: 200 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
 T_{III}: 300 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
^YP: 0.05

Table 4. Effects of Skullcap radix extracts on concentration of plasma protein in CCl₄-exposed rats

Treatment ^Z	Concentration ^Y		
	Plasma total protein (g/dℓ)	Plasma albumin (g/dℓ)	Albumin/Globulin (%)
Control	7.93±1.02	4.31±0.88	1.19±0.06 ^a
T _I	7.52±0.85	4.94±0.76	1.91±0.04 ^c
T _{II}	7.38±0.72	4.61±0.49	1.66±0.04 ^b
T _{III}	7.11±0.74	4.47±0.63	1.69±0.07 ^b

^ZControl: CCl₄, T_I: 100 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄
 T_{II}: 200 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄
 T_{III}: 300 mg/kg Skullcap radix extracts +CCl₄
^YP: 0.05

Table 5. Effects of Skullcap radix extracts on plasma glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), plasma glutamic pyruvic transaminase (GPT) and plasma lactic dehydrogenase (LDH) activities in CCl₄-exposed rats

Treatment ^Z	Karmen unit ^Y		
	GOT	GPT	LDH
Control	157.68 ± 21.35 ^c	149.53 ± 18.14 ^b	592.47 ± 71.83 ^c
T _I	105.32 ± 11.79 ^b	129.57 ± 11.35 ^b	421.67 ± 35.77 ^b
T _{II}	82.17 ± 9.61 ^a	108.15 ± 9.68 ^a	339.51 ± 32.81 ^a
T _{III}	74.55 ± 10.14 ^a	97.74 ± 8.51 ^a	291.74 ± 35.38 ^a

^ZControl: CCl₄, T_I: 100 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

T_{II}: 200 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

T_{III}: 300 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

^YP: 0.05

Table 6. Effects of Skullcap radix extracts on liver cytokinin concentration in CCl₄-exposed rats

Treatment ^Z	Concentration ^Y (pg/mg)			
	IL-1β	IL-6	TNF-α	IL-10
Control	28.11 ± 2.59 ^b	5.11 ± 0.55 ^b	2.88 ± 0.41 ^b	1.41 ± 0.17 ^a
T _I	25.85 ± 2.77 ^{ab}	3.74 ± 0.71 ^a	1.11 ± 0.31 ^a	1.69 ± 0.21 ^{ab}
T _{II}	21.27 ± 2.31 ^a	3.51 ± 0.48 ^a	1.57 ± 0.38 ^a	1.95 ± 0.14 ^b
T _{III}	21.73 ± 2.84 ^a	3.09 ± 0.52 ^a	1.21 ± 0.17 ^a	1.81 ± 0.27 ^b

^ZControl: CCl₄, T_I: 100 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

T_{II}: 200 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

T_{III}: 300 mg/kg Skullcap radix extracts + CCl₄

^YP: 0.05

다(Barton 등, 2001). 이와 같은 결과는 간장중독에 의한 간장염증반응으로 백혈구 총수가 증가하였으나, 황금의 기능성 물질들이 간장염증반응을 완화시켜 백혈구 총수를 하락시킨 것으로 생각된다.

또한 백혈구 구성에서도 대조군의 경우, neutrophils의 비율이 증가하고, lymphocytes의 비율이 감소하는 간장중독시의 전형적인 백혈구 구성(Kim과 Yoon, 1996)을 나타내었으나, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 neutrophils의 비율이 감소하고, lymphocytes의 비율이 증가하는 등, 간장중독 회복시의 전형적인 백혈구 구성으로 변화되었다. 이와 같은 결과는 황금추출물이 간장중독에 의한 간장염증반응을 완화하였음을 시사해 준다.

또한 Basophils의 구성비는 미미한 수치로 처리군 별 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 monocytes의 비율은 증가하고, Eosinophils의 비율이 감소하여, 간장중독의 회복에 수반한 염증반응의 정도에 따라 각종 백혈구의 종류별로 상호변화가 있었음을 인지시켜 주었다.

Table 4는 각 처리군 별 혈장 protein농도를 나타낸 것이다. Total protein농도 및 albumin농도는 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 albumin/globulin농도 비율은 대조군보다 황금추출물 처리군에서 높게 나타났다. 이러한 결과는 황금 처리가 생체 내 면역계에 긍정적으로 작용하였음을 시사해 주며, 간장염증반응의 완화효과에도 영향을 주었을 것으로 생각된다.

Table 5에 각 처리군 별 GOT, GPT 및 LDH의 효소활성치를 나타내었다. 3개 혈장효소 활성치 모두가 대조군보다 황금추출물 처리군에서 낮은 수치를 나타내었으며, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 하락하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 간장이 급성 중독 상태인 경우에 혈장 내 이들 효소들의 활성치가 급진적으로 증가함을 고려해 보면, 황금이 간장중독을 완화시켰음을 시사해 준다.

Table 6은 각 처리군 별 간장 내 전염증성 cytokines 농도를 나타낸 것이다. 간장은 생체의 염증반응 시에 각종 전염증성 cytokines들을 생산하는 기관이다(Kim과 Yoon, 1998). 본 연구에서 IL-1β, IL-6 및 TNF-α의 농도는 대

조군보다 황금추출물 처리군에서 모두 낮은 값을 나타내었으며, IL-10의 농도는 대조군보다 황금추출물 처리군들 모두가 높은 값을 나타내었다. LPS shock 염증반응에서 간장의 활성화된 Kuffer cell들은 IL-1 β (Simpson 등, 1997) 및 TNF- α (Hamada 등, 1999; Harbrecht 등, 1994)를 지속적으로 방출하였고, LPS 처리 후 30분 이내에 IL-6 mRNA가 급격하게 증가하였다(Sang 등, 1999)고 보고되었다.

또한 간장은 IL-10을 생산하는 주요 source이며, 특히 설치류에서 IL-10은 LPS 염증반응시에 Kuffer cell에서 TNF- α 및 IL-6를 down-regulate한다(Simpson 등, 1997; Thompson 등, 1998; Eduard 등, 2004)고 보고되었다. 이러한 여러 연구결과들과 본 연구의 결과를 관련지어 해석해 보면 황금이 CCl₄에 의해 유도된 간장 내 염증반응을 완화시켰음을 시사해 준다.

적 요

황금추출물의 간장기능 회복능을 알아보기 위하여, CCl₄로 간중독을 유도한 쥐에게 황금추출물을 급여한 후, 혈액성상, 혈액 내 효소활성치 및 간장 내 전염증성 cytokines의 농도변화를 검토했다. RBC, Hb 및 PCV의 값은 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 백혈구 총수는 대조군과 비교하여 황금 처리군 모두가 낮은 수치를 나타내었으며, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 neutrophils 및 eosinophile의 비율이 감소하고, lymphocytes 및 monocytes의 비율이 증가하였다. basophils의 구성비는 처리군 별 유의한 차이를 나타내지 않았다. Total protein 농도 및 albumin 농도는 처리군 간에 유의한 차이를 나타내지 않았다. 그러나 albumin/globulin 농도 비율은 대조군보다 황금추출물 처리군에서 높았다. GOT, GPT 및 LDH의 효소활성치들은 모두가 대조군보다 황금추출물 처리군에서 낮은 수치를 나타내었으며, 황금추출물 첨가량이 증가함에 따라 하락하는 경향을 보였다. 간장 내 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 의 농도는 대조군보다 황금추출물 처리군 모두가 낮은 값을 나타내었으며, IL-10의 농도는 대조군보다 황금추출물 처리군 모두가 높은 값을 나타내었다. 이상의 결과를 종합해 보면 황금추출물은 간장기능회복에 효과를 나타내는 기능성 물질을 내재하고 있음을 시사해 준다.

사 사

본 연구는 상지대학교 교내연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

인용문헌

Barton, C.C., E.X. barton, P.E. Ganey, S.L. Kunkel, and R.A. Roth. 2001. Bacterial lipopolysaccharide enhances aflatoxin B₁ hepatotoxicity in rats by a mechanism that depends on tumor necrosis factor- α . *Hepatology* 33:66-73.

Eduard, F.M., S.M.R. Martha, P.A. Victor, and M. Pablo, 2004. Immunomodulatory effects of thalidomide analogs on LPS-induced plasma and hepatic cytokines in the rat. *Biochem. Pharmac.* 68:1321-1329

Hamada, E., T. Nishida, Y. Uchiyama, J. Nakamura, K. Isihara, and H. Kazuo. 1999. Activation of Kupffer cells and caspases-3 involved in rat hepatocyte apoptosis induced by endotoxin. *J. Hepatol.* 30:807-818.

Harbrecht, B.G., M. Disilvio, A.J. Demetris, R.L. Simmons, and T.R. Billiar. 1994. Tumor necrosis factor- α regulates in vivo nitric oxide synthesis and induces liver injury during endotoxemia. *J. Hepatol.* 20:1055-1060.

Kim, D.H, and S.H. Yoon, 1998. Hepatoprotective Effect of Sosihotang on CCl₄ induced Liver Injury in Rats. *J. Korean Soc. Hygienic Sciences* 4(2):1-6.(in Korean)

Kim, H.C. 2001. Textbook of herbal pharmacology. Jipmundang, pp.129-133. (in Korean).

Kubo, M., Y. Kimura, T. Odani, T. Tani, and K. Namba. 1981. Studies on *Scutellaria radix*. II., The antibacterial substance. *Planta Med.* 43:194-201.

Kubo, M., H. Matusuda, Y. Kimura, H. Okuda, M. Higashino, T. Tani, K. Namba, and S. Arichi. 1984. Studies on *Scutellariae Radix*. VII. Anti-arthritis and anti-inflammatory action of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellariae Radix*. *Chem. Pharm. Bull.* 33:2411-2415.

Middleton, Jr. E. and V. Drzewiecki. 1985. Naturally occurring flavonoids and human basophil histamine release. *Int. Archs. Allergy Appl. Immun.* 77: 155-157.

Middleton, Jr. E. J.B. Harborne, and A. Beretz. 1988. *Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Biochemical, cellular and medicine properties.* Alan R. Liss, New York, pp.61-65.

Middleton, Jr. E. and J.B. Harborne, 1986. *Plant flavonoids in biology and medicine, biochemical, pharmacological, structure-activity relationship.* Alan R. Liss, New york, pp. 429-440.

Rabson, A., I.M. Roitt, and P.J. Delves. 2005. Really essential

medical immunology. Blackwell Publishing Ltd, Oxford. pp.1-14,
Sang, H., G.L. Wallis, C.A. Stewart, and K. Yashige. 1999. Expression of cytokines and activation of transcription factors in lipopolysaccharide-administered rats and their inhibition by phenyl N-tert-butyl nitro (PBN). Arch. Biochem. Biophys. 363:341-348.
Simpson, K.J., N.W. Lukacs, L. Colletti, R.M. Strieter, and S.L.

Kunkel. 1997. Cytokines and the liver. J. Hepatol. 27:1120-1232.
Thompson, K.C., A. Trowern, A. Fowell, M. Marathe, C. Haycock, and M.J.P. Arthur. 1998. Primary rat and mouse hepatic stellate cells express the macrophage inhibitor cytokine interleukin-10 during the course of activation in vitro. Hepatology 28:1518-1524.

(접수일 2009.12.28; 수락일 2010.2.16)