

## 결명자 추출물이 D-Galactosamine 유발 간 손상에 미치는 영향

홍경희 · 엄민영\* · 안지윤\* · †하태열\*

배화여자대학교 식품영양과, \*한국식품연구원 대사기능연구본부

### Effect of *Cassia tora* Extracts on D-Galactosamine-induced Liver Injury in Rats

Kyung Hee Hong, Min Young Um\*, Jiyun Ahn\* and †Tae Youl Ha\*

Dept. of Food and Nutrition, Baewha Women's University, Seoul 110-735, Korea

\*Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea

#### Abstract

This study was performed to evaluate the biological activity and protective effect of *Cassia tora* ethanol extracts against D-galactosamine induced hepatotoxicity in rats. Male Sprague-Dawley rats were grouped into normal group, D-galactosamine treated group(control), D-galactosamine plus 0.25% *Cassia tora* extracts treated group and D-galactosamine plus 0.5% *Cassia tora* extracts treated group. Normal and control group were fed control diet and *Cassia tora* extracts treated groups were fed experimental diets containing 0.25% or 0.5% *Cassia tora* ethanol extracts for 5 weeks. Body weight gain and liver weight of rats were not significantly different between groups. Cholesterol and triglyceride concentrations in serum and liver were significantly lower in rats treated only with D-galactosamine compared to normal group, and improved in *Cassia tora* extracts supplemented rats. D-galactosamine treatment significantly increased serum aspartate transaminase, alanine transaminase, gamma glutamyl transferase and alkaline phosphatase, however, the activities of aspartate transaminase and alanine transaminase were significantly decreased in *Cassia tora* extracts supplemented rats when compared with D-galactosamine treated control group. *Cassia tora* extracts significantly suppressed the D-galactosamine-induced elevation of liver thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) contents. Superoxide dismutase activity was decreased by D-galactosamine treatment, however by the supplementation of *Cassia tora* ethanol extracts, significantly increased in dose-dependent manner. Glutathione peroxidase activity in rats fed diets containing *Cassia tora* extracts was decreased compared to control. Based on these results, we concluded that *Cassia tora* ethanol extracts may prevents the D-galactosamine-induced hepatotoxicity probably via an antioxidant mechanism.

Key words: *Cassia tora* extract, hepatoprotection, D-galactosamine, rat

#### 서론

결명자(決明子, *Cassiae semen*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 1년생 초본식물인 결명(*Cassia tora* L.) 또는 초결명(*Cassia obtusifolia* L.)의 성숙한 종자를 말한다. 현재 시중에 유통되고 있는 결명자는 대부분 *Cassia tora*의 씨로서, 우리나라에서는 예로부터 약재로서 뿐만 아니라, 차의 형태로 혼

히 이용되어 왔다(박 & 이 1992). 한방에서 결명자는 청간(淸肝), 명목(明目), 이수(利水),通便(通便)의 효능으로, 풍열(風熱)로 인한 눈위 충혈, 청맹(靑盲), 야맹증, 고혈압, 간염, 간경변으로 인한 복수(腹水), 습관성 변비 등의 치료에 이용되고 있다(정 & 신 1998).

결명자의 효능에 대한 연구에서는 결명자의 각종 용매 분획물을 이용하여 SHR 쥐를 이용한 혈압강하효과(Pati 등 2004)

† Corresponding author: Tae Youl Ha, Division of Metabolism and Functionality Research, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-746, Korea. Tel: +82-31-780-9054, Fax: +82-31-780-9059, E-mail: tyhap@kfri.re.kr

와 streptozotocin 유발 당뇨쥐의 혈당강하효과(Lim & Han 1997) 등이 보고되었다. 또한 선행연구에서 결명자 에탄올 추출물이 고콜레스테롤 식이로 고지혈증이 유발된 흰쥐에서 혈청 및 간의 총 콜레스테롤과 중성지방을 감소시켰고(Ha 등 2001a), 당뇨병 환자에게 결명자에서 추출한 식이섬유를 2달간 공급한 임상연구에서도 혈청 총 콜레스테롤 및 LDL-콜레스테롤과 중성지방의 감소가 보고되었다(Cho 등 2005). 결명자의 항산화기능에 대한 연구들도 진행되어, 결명자 열수추출물(Na 등 2004)과 결명자 메탄올 추출물(Im 등 2005)이 free radical 소거 작용과 SOD 유사활성을 갖는다고 보고되었다. 그 외에도 결명자의 항균작용(Choi 등 1994), 돌연변이 억제효과(Choi 등 1997; Ahn BY 2009), 항알레르기 효과(Singh 등 2010) 등이 보고되었다.

결명자 에탄올 추출물은 본 연구진의 선행 연구에서 사염화탄소로 유발된 간 손상을 감소시키는 효과가 있음이 나타났고(Ha 등 2001b), Choi 등(2001)은 알코올에 의한 지방간 또는 손상된 간세포를 회복시키는 작용이 있다고 하였다. 또한 Byun 등(2007)은 결명자 물 추출물이 타크린으로 유발한 간세포(HepG2)의 사멸에 대해 보호효과를 나타냈다고 보고하였다.

D-Galactosamine은 기능과 형태에 있어서 바이러스성 간염과 유사한 간독성을 일으키는 것으로 알려져 있다(Keppler & Decker 1969; Decker 등 1973). 특히 간세포괴사 및 실질세포와 문맥 등의 염증을 유발하고 급성 중독시 대사장애로 간 괴사가 일어나게 되며, 만성 중독시 간경변과 세포성 종양이 일어나는 것으로 보고되어 있다(Farber 등 1973).

본 연구에서는 민간 및 한방에서 이용되고 있는 결명자의 효능을 검증하고, 소재화 하는 연구의 일환으로 결명자가 간 기능에 미치는 영향을 검토하고자 결명자 에탄올 추출물이 D-galactosamine으로 간 손상을 유발한 흰쥐에서 간기능 관련 효소 활성도 및 과산화 지질함량에 미치는 영향을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 조제

실험에 사용된 결명자는 경북 고령에서 생산된 것을 구입하여 사용하였다. 결명자는 이물질을 골라내고, 물로 씻어 30°C 건조기에서 건조시킨 후, 40 mesh로 분쇄하여 70% 에탄올 용액을 시료 중량의 10배를 가하여 16시간 동안 shaking한 다음 Toyo No. 2 여지를 사용하여 여과하였다. 여액은 감압 농축시킨 후 동결건조하여 추출물 시료로 사용하였으며, 추출물의 수율은 11.3%였다.

### 2. 실험동물의 사육 및 시료의 채취

실험동물은 6주령 된 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 대한 바이오링크(주)로부터 구입하여 1주일간 기본식으로 적응시킨 후, 난괴법에 의해 정상군, D-galactosamine 투여 대조군, 0.25% 추출물 투여군, 0.5% 추출물 투여군으로 나누어 5주간 사육하였으며, 물과 실험식은 자유롭게 공급하였다. 본 실험에 사용한 식이는 AIN-76 diet 조성(corn starch 45%, casein 20%, sucrose 20%, corn oil 5%, cellulose 5%, mineral mix 3.5%, vitamin mix 1%, methionine 0.3%, choline chloride 0.2%)에 준하였고, 0.25% 추출물 투여군과 0.5% 추출물 투여군에는 결명자 에탄올 추출물을 각각 0.25%, 0.5%가 되도록 기본식에 더하여 공급하였다. 식이 섭취량은 격일에 한 번 측정하였으며, 체중은 매주 측정하였다.

D-Galactosamine 투여 대조군과 0.25% 추출물 투여군, 0.5% 추출물 투여군에는 멸균증류수에 녹여 조제한 D-galactosamine을 800 mg/kg B.W.의 농도로 해부 20시간 전에 복강 내 투여하였으며, 투여 전후 4시간씩 절식시켰다.

실험동물은 에테르 마취하에 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하고, 간을 적출하여 식염수로 씻은 후 trimming하여 무게를 측정 후 측정 시까지 -70°C에서 보관하였다. 채취한 혈액은 실온에서 1시간 이내로 방치시킨 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 분석 전까지 -70°C에서 보관하였다.

### 3. 혈청 및 간 조직의 콜레스테롤과 중성지방 함량 측정

혈청 중 콜레스테롤과 중성지방 함량은 (주)신양화학의 kit을 사용하여, 콜레스테롤은 Cholestezyme-V, 중성지방은 Triglyzyme-V로 함량을 측정하였다. Foch법(Folch 등 1957)으로 간 조직 중의 지질을 추출한 후 분석 kit을 사용하여 콜레스테롤과 중성지방 함량을 측정하였다.

### 4. 혈청 중 AST, ALT, $\gamma$ -GTP, ALP의 활성 측정

혈청 중 aspartate transaminase(ALT), alanine transaminase(ALT), gamma glutamyl transferase( $\gamma$ -GTP), alkaline phosphatase(ALP)의 활성 측정은 (주)신양화학의 kit을 이용하여 분석하였다. AST와 ALT는 Reitman-Frankel법에 준한 혈청지오티 지피티 측정세트를 사용하였고,  $\gamma$ -GTP는  $\gamma$  glutamyl-p-nitroanilide 기질법에 의한  $\gamma$ -GTP-S로, ALP는 King-king법을 변경 개량한 뉴-케어-포스를 사용하여 활성을 측정하였다.

### 5. 간 조직의 과산화지질 함량 측정

간 조직 1 g에 1.15% KCl 9 mL를 가하여 homogenizer(Teflon Potter-Elevehjem)로 마쇄한 후 600×g에서 10분간 원심분리하여 그 상층액을 얻은 후 과산화지질 분석을 위한 시료로 사용하

였다. 과산화지질의 분석은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따라 분석하였으며, 표준물질로는 1,1,2,2-tetraethoxypropane을 사용하였다.

## 6. 항산화 효소의 활성 측정

간 조직 1 g 당 15 ml의 0.25 M sucrose/0.5 M EDTA를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 마쇄하여 얻은 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하고, 상층액을 취하여 catalase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이 상층액을 다시 10,000×g에서 30분간 원심분리하여 post mitochondrial fraction을 얻어 이를 superoxide dismutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GPX)의 활성 측정에 사용하였다. 조제된 시료는 분석 시까지 -70℃에서 냉동보관하였다. Catalase의 활성 측정은 기질인 hydroxide peroxide가 분해되는 정도를 측정하는 Abei LH(1974)의 방법에 준하였고, SOD 활성은 Marklund와 Marklund(1974)의 방법, GPX 활성은 Lawrence와 Burk(1976)의 방법에 의하여 측정하였다. 각 효소원의 단백질량은 Lowry 법(1951)에 의해 정량하였고, 표준 단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

## 7. 통계처리

실험결과는 SAS를 이용하여 실험군당 평균±표준오차로 나타내었으며, 각 군의 유의차 검정은 분산분석을 한 후  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan의 다중비교법에 의해 검증하였다.

# 결과 및 고찰

## 1. 체중증가량 및 간 무게의 변화

실험동물의 체중증가량, 사료섭취량 및 간 중량에 미치는 결명자 에탄올 추출물의 영향을 Table 1에 나타내었다. 체중증가량은 모든 군에서 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 결명

자 에탄올 추출물을 공급한 군에서 정상군이나 D-galactosamine 투여 대조군에 비해 사료섭취량이 유의적으로 높았고, 그 결과 식이효율이 결명자 에탄올 추출물을 공급한 군에서 유의적으로 낮았다. 간 중량의 경우, 모든 군에서 통계적 유의성은 나타나지 않았으나, D-galactosamine을 투여한 군에서 정상군에 비해 다소 증가하는 경향을 보여, 사염화탄소로 간독성을 유발했을 때 간 중량이 증가한 선행 연구(Ha 등 2001b)와 유사한 결과를 보였다. 본 실험 조건하에서는 결명자 추출물은 간 중량에는 크게 영향을 미치지 않는 것으로 사료되었다.

## 2. 혈청 및 간의 지질 함량

D-Galactosamine 등으로 인한 간 손상시 간 조직 및 혈청의 지질 함량에 영향을 미칠 것으로 사료되어 혈청 및 간 조직의 지질 함량을 측정하여 그 결과를 Table 2에 나타내었다.

혈청 콜레스테롤과 중성지방은 D-galactosamine 투여 대조군에서 정상군에 비해 크게 감소하였다. 결명자 에탄올 추출물을 공급하였을 때 혈청 중성지방이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였고, 통계적 유의성은 없었으나 혈청 콜레스테롤도 다소 증가하는 경향을 보였다. 간 조직의 콜레스테롤 및 중성지방의 함량도 혈청과 마찬가지로 정상군에 비해 D-galactosamine 투여 대조군에서 유의적으로 감소하였고, 결명자 추출물을 공급하였을 때 콜레스테롤은 유의적으로 증가하였고, 통계적 유의성은 없었으나 중성지방도 다소 증가하는 경향을 보였다. D-Galactosamine으로 간 손상을 유발한 흰쥐에서 혈청 콜레스테롤은 감소하고 중성지방은 증가하였다고 한 Cho 등(2006)의 보고에서는 본 연구 결과와 다소 다른 결과를 보였다. 혈청 또는 간 조직의 콜레스테롤 및 중성지방 함량의 감소는 중증 간질환 장애와 같은 간장 장애가 발생하였을 때 나타난다고 보고되어 있어(Kim & Han 1998), 본 연구 결과 결명자 추출물 공급은 간 손상으로 인한 지질 감소를 어느 정도 억제하는 효과를 나타내는 것으로 보이며, 결명자 추출

Table 1. Body weight gain, total diet intake and liver weight of rats fed experimental diets for 5 weeks

	Normal	GalN <sup>2)</sup>	GalN+0.25% Ext. <sup>3)</sup>	GalN+0.5% Ext. <sup>4)</sup>
Initial B.W.(g)	196.2 ± 7.7 <sup>1)</sup>	195.1 ± 4.0	196.3 ± 6.5	196.3 ± 3.0
Final B.W.(g)	345.7 ± 21.2	349.0 ± 18.4	334.3 ± 14.0	356.6 ± 12.1
Weight gain(g)	149.4 ± 14.3	153.9 ± 16.6	138.0 ± 9.5	160.3 ± 11.0
Total diet intake(g)	567.8 ± 37.9 <sup>b</sup>	613.9 ± 25.9 <sup>b</sup>	753.9 ± 26.6 <sup>a</sup>	741.9 ± 30.3 <sup>a</sup>
FER	0.26 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>ab</sup>
Liver weight(g)	10.5 ± 0.9	11.8 ± 0.9	11.7 ± 0.4	11.5 ± 0.5

<sup>1)</sup> Values are mean±S.E.(n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. FER: Food efficiency ratio,

<sup>2)</sup> GalN: D-galactosamine injection, <sup>3)</sup> GalN+0.25% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.25% *Cassia tora* ethanol extract,

<sup>4)</sup> GalN+0.5% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.5% *Cassia tora* ethanol extract.

**Table 2. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the concentration of serum and liver cholesterol, triglyceride in experimental rats**

	Serum		Liver	
	Cholesterol (mg/dl)	Triglyceride (mg/dl)	Cholesterol (mg/g liver)	Triglyceride (mg/g liver)
Normal	68.0±3.5 <sup>1a</sup>	106.0±7.6 <sup>a</sup>	3.8±0.1 <sup>a</sup>	24.48±1.2 <sup>a</sup>
GalN <sup>2)</sup>	20.4±1.5 <sup>b</sup>	27.7±2.2 <sup>c</sup>	2.3±0.1 <sup>c</sup>	7.82±1.1 <sup>b</sup>
GalN+0.25% Ext. <sup>3)</sup>	21.6±2.5 <sup>b</sup>	36.9±1.9 <sup>b</sup>	2.8±0.0 <sup>b</sup>	9.91±1.2 <sup>b</sup>
GalN+0.5% Ext. <sup>4)</sup>	23.1±1.5 <sup>b</sup>	40.6±1.8 <sup>b</sup>	2.7±0.1 <sup>b</sup>	11.12±1.1 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Values are mean±S.E.(n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. FER: Food efficiency ratio,  
<sup>2)</sup> GalN: D-galactosamine injection,  
<sup>3)</sup> GalN+0.25% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.25% *Cassia tora* ethanol extract,  
<sup>4)</sup> GalN+0.5% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.5% *Cassia tora* ethanol extract.

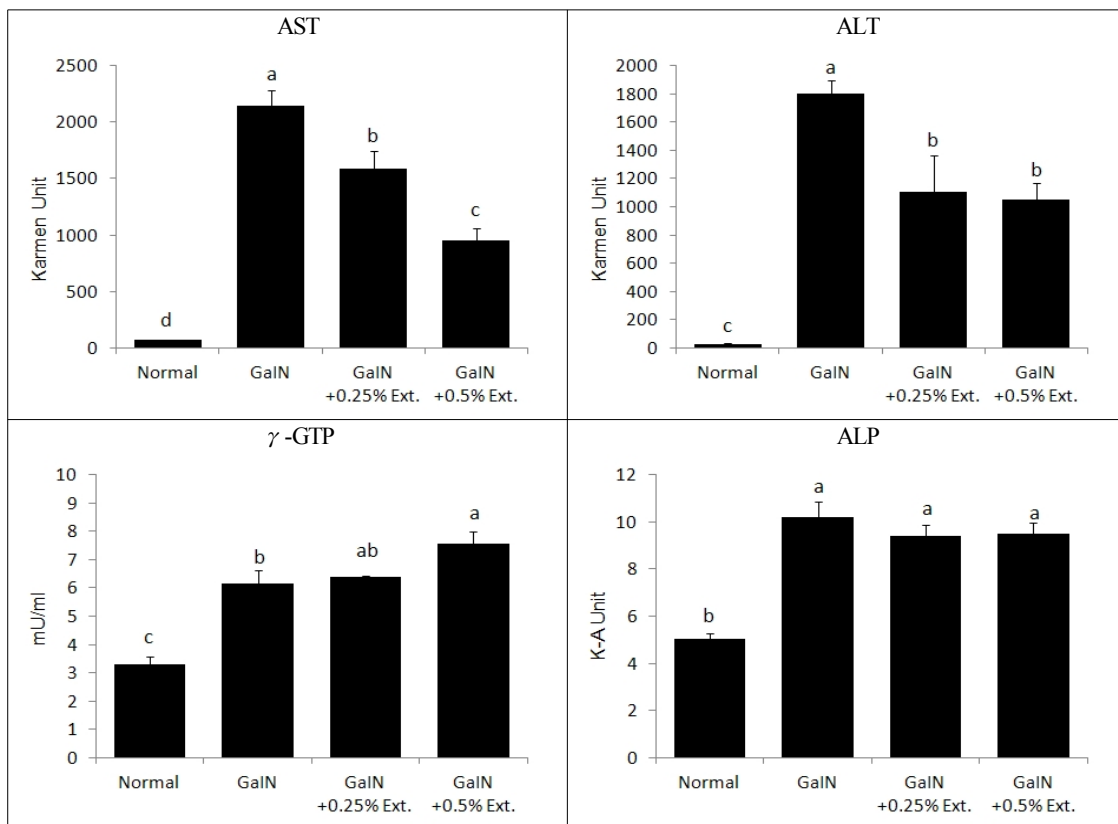
물이 D-galactosamine으로 인한 간 독성으로부터 간 조직을 보호하는 것으로 사료되었다.

**3. 혈청 중 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP 및 ALP의 활성**

D-Galactosamine을 투여한 흰쥐에 있어서 결명자 추출물의 투여가 간질환 유무를 판단하는 지표효소들인 혈청 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP 및 ALP 활성에 미치는 영향을 Fig. 1에 나타내었다.

혈청 중의 AST와 ALT 활성을 보면, 정상군에 비해 D-galactosamine 투여 대조군에서 급격하게 증가하였고, 결명자 추출물 첨가군에서는 대조군에서 증가되었던 활성이 유의하게 감소되어 결명자 추출물이 D-galactosamine에 의한 효소 활성의 상승 억제효과를 보였다. 이러한 효과는 AST 활성의 경우 추출물의 첨가 농도가 높을수록 크게 나타나 농도의존성을 보였다.

손상된 간으로부터 혈액에 방출된 간의 효소 활성도 측정은 간기능 측정의 유용한 방법으로 D-galactosamine 등 유독 물질에 의한 간세포의 괴사와 간 조직의 파괴가 진행됨에 따



**Fig. 1. The effect of *Cassia tora* ethanol extract on the serum AST, ALT,  $\gamma$ -GTP and ALP activity in experimental rats.** Values are mean±S.E.(n=8) and those on the bar not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. GalN: D-galactosamine injection, GalN+0.25% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.25% *Cassia tora* ethanol extract, GalN+0.5% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.5% *Cassia tora* ethanol extract.

라 transaminase가 혈중으로 유리되어 AST, ALT의 효소 활성도가 현저하게 증가된다(Hayes AW 1982). 실제로 D-galactosamine 처리로 간 손상을 유발한 흰쥐에서 혈청 AST와 ALT가 급격히 상승하였다는 연구 결과들(Kim 등 2004; Choi 등 2006; Choi 등 2007)과 같이, 본 연구에서도 D-galactosamine 투여 대조군에서 정상군에 비하여 AST와 ALT 활성이 유의한 상승을 보여 간독성이 유발됨을 알 수 있었고, 결명자 에탄올 추출물을 공급하였을 때 대조군에 비하여 AST 및 ALT의 효소 활성은 각각 26~56%와 38~41%의 유의한 개선 효과가 나타났다.

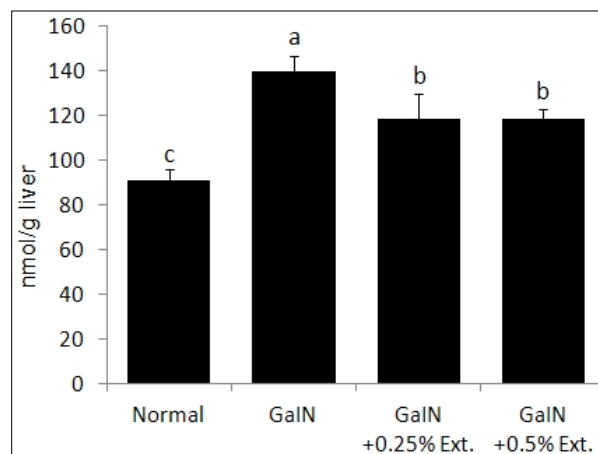
간, 담도계 질환의 지표효소로 알려진 ALP는 담즙 울체 시, 담즙을 통한 간 유래 ALP의 배설장애와 담관 내압 향진에 의한 간에서의 생성 증가로 혈중 활성이 현저히 증가하는 것으로 알려져 있으며, 다른 연구 결과(Choi 등 2006; Kim 등 2007)와 유사하게 본 연구에서도 D-galactosamine 투여로 혈청 ALP 활성이 정상군에 비해 유의적으로 증가하였다. 결명자 추출물 첨가군에서 다소 ALP의 감소 경향이 나타났으나 통계적 유의성은 없었다.

$\gamma$ -GTP도 침윤성 간질환 및 알코올에 의한 간 손상 지표 효소의 하나로서 이러한 병변 시 유의하게 증가하는 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서도 D-galactosamine 투여로 인해 유의하게 증가하였고, 결명자 추출물 첨가군에서 다소 증가하였다.

이상과 같이 결명자 에탄올 추출물은 D-galactosamine에 의하여 증가된 AST, ALT 등 간질환 관련 효소의 활성을 유의하게 감소시키는 것으로 보아 D-galactosamine에 의해 유발되는 간 조직의 손상을 억제하여 간을 보호하는 작용이 있는 것으로 판단되었다.

#### 4. 간 조직의 TBARS 함량

Fig. 2에는 결명자 에탄올 추출물이 D-galactosamine으로 처리한 흰쥐 간 조직의 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 함량에 미치는 영향을 나타내었다. 과산화지질의 지표로 TBARS량을 측정된 결과, D-galactosamine으로 간 손상을 유발시켰을 때 정상군에 비해 154% 정도 증가하였다. 이는 D-galactosamine을 투여함으로써 간 조직의 지질과산화물 함량이 현저하게 증가했다고 보고한 Kim 등(2004)과 Choi 등(2006)의 연구 결과와도 일치하였다. D-Galactosamine 등 독성물질들 생체 내 투여하여 생성되는 oxygen radical은 세포막을 구성하는 불포화지방산의 산화적 반응에 의해 지질과산화를 초래하여 혈액 및 조직 내 과산화지질 함량을 증가시키고, 결국은 연쇄적인 조직의 괴사를 초래한다(Adzharov 등 1989). 결명자 추출물을 공급하였을 때 0.25%, 0.5% 추출물 첨가군 모두 D-galactosamine 대조군에 비해 TBARS 함량이 유의하게 감소하였다. 사염화탄소로 간 손상을 유도한 본 연



**Fig. 2. The contents of thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) in liver of experimental rats.** Values are mean±S.E.(n=8) and those on the bar not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. GalN: D-galactosamine injection, GalN+0.25% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.25% *Cassia tora* ethanol extract, GalN+0.5% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.5% *Cassia tora* ethanol extract.

구진의 선행 연구에서도 결명자 에탄올 추출물은 TBARS의 생성을 억제하여 본 연구와 유사한 결과를 보였다(Ha 등 2001b). 본 연구 결과를 볼 때 결명자 에탄올 추출물의 투여가 D-galactosamine 투여로 생성되는 free radical의 생성을 억제하거나 소거하여 간 조직의 지질과산화반응을 억제하여 간을 보호하는 것으로 사료된다.

#### 5. 간 조직의 항산화효소 활성 변화

Table 3에는 간 조직의 SOD, catalase, GPX의 활성 변화를 나타내었다. SOD 활성은 D-galactosamine 투여에 의해 유의하게 감소하였는데, 이는 D-galactosamine 투여로 SOD 활성이 감소하였다는 다른 보고들(Kim 등 2004; Choi 등 2006; Cho 등 2007)과 일치하는 결과이다. SOD는 구리와 아연, 철, 망간과 같은 금속을 함유하고 있으며, 그 중 구리와 아연, 망간을 함유하는 SOD는 동물의 거의 모든 조직에 존재하고 있다. 그 중 간 조직에 가장 많이 존재하며, 효소 내부의 이러한 금속의 산화·환원작용으로 인하여 superoxide radical에 전자를 전달하여 독성을 가지는 superoxide radical을  $H_2O_2$ 로 전환시켜 해독하는 역할을 한다(Mates 등 1999). 결명자 추출물 첨가군의 경우, D-galactosamine 투여로 인해 감소한 SOD 활성이 농도의존적으로 증가하여 0.5% 추출물 첨가군에서는 정상군의 활성도에 가깝게 증가됨을 볼 수 있었고, 따라서 결명자 추출물이 간독성으로 인한 SOD 효소활성 저하를 억제하는

**Table 3. Changes of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activity of experimental rats**

	Superoxide dismutase (unit/min mg protein)	Catalase (unit/min mg protein)	Glutathione peroxidase (nmoles/min mg protein)
Normal	9.1±0.3 <sup>1)a</sup>	203.0± 4.5	0.71±0.01 <sup>a</sup>
GalN <sup>2)</sup>	6.5±0.3 <sup>c</sup>	179.1± 2.5	0.72±0.01 <sup>a</sup>
GalN+0.25% Ext. <sup>3)</sup>	7.8±0.1 <sup>b</sup>	190.5± 5.3	0.59±0.03 <sup>b</sup>
GalN+0.5% Ext. <sup>4)</sup>	8.6±0.5 <sup>ab</sup>	197.6±14.4	0.57±0.04 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Values are mean±S.E.(n=8) and those in the same row not sharing common superscript letters are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test. FER: Food efficiency ratio,

<sup>2)</sup> GalN: D-galactosamine injection, <sup>3)</sup> GalN+0.25% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.25% *Cassia tora* ethanol extract,

<sup>4)</sup> GalN+0.5% Ext.: D-galactosamine injection after fed a diet containing 0.5% *Cassia tora* ethanol extract.

효과를 나타낸다고 판단되었다.

Catalase는 간에 가장 많이 존재하며, SOD의 작용으로 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해하여 무독화시키는 free radical scavenging 효소 중의 하나이다. Catalase 역시 통계적 유의성은 없었으나 D-galactosamine 투여 대조군의 활성이 정상군에 비해 감소하여 Kim 등(2004)과 Choi 등(2006)의 보고와 같은 결과였고, 결명자 추출물에 의하여 증가하는 경향을 보였다.

GPX는 glutathione을 기질로 하여 과산화지질과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 무독화를 촉매하는 항산화 효소로써, 산화적 스트레스에 의해 활성이 증가하는 것으로 알려져 있다(Mutanen & Mukkanene 1984). 본 연구에서 GPX 활성이 결명자 추출물을 공급한 군에서 대조군보다 유의하게 감소되었는데, 이는 결명자 추출물이 D-galactosamine에 의한 free radical의 생성을 저하시킨 것으로 추측된다. 체내 효소적 항산화계는 산화적 스트레스 유도물질의 종류와 농도, 조직에 따라 각 효소의 반응이 다르게 나타나는 것으로 생각된다.

선행연구에서 결명자 추출물이 항산화효소 활성을 통하여 사염화탄소로 인한 간 손상을 억제하는 결과가 나타났고(Ha 등 2001b), 또한 지부자의 활성성분(Kim 등 2004)을 비롯하여, 순무(Choi 등 2006), 발효강화썩(Chok 등 2007) 등 다양한 천연물 소재들이 항산화효소 활성 개선에 의해 D-galactosamine 투여로 유발된 간독성으로부터 간 보호효과를 나타냈다고 보고되었다. 또한 현재 간질환 치료제로써 널리 쓰이고 있는 silymarin은 간기능 보호효과가 항산화작용 및 free radical 소거 작용에 기인한다고 보고되고 있다(Lettéron 등 1990). 실제로 산화 스트레스 억제 효과, free radical 소거작용 등 결명자 추출물(Choi JS 1994; Na 등 2004; Im 등 2005) 및 결명자에서 추출한 유효성분(Aviello 등 2010)의 항산화기능이 보고되고 있어, 이상의 결과를 볼 때 D-galactosamine 투여로 유발된 간 손상에 대한 결명자 에탄올 추출물의 간 보호효과는 일부 산화적 스트레스에 대한 방어적 작용에 기인한 것으로 사료된다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 결명자의 에탄올 추출물이 D-galactosamine을 투여한 흰쥐의 간 손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 정상군, D-galactosamine 대조군, 결명자 에탄올 추출물 0.25% 첨가군 및 0.5% 첨가군으로 나누어 5주간 사육한 후 혈청 중간 기능 관련효소의 활성변화, 혈청 및 간 조직의 지질 및 지질 과산화물의 함량, 간 조직의 SOD, catalase, GPX의 활성 변화를 관찰하였다. 이에 대한 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 체중증가량 및 간 중량에는 각 군간 유의차가 나타나지 않았다.

2. D-Galactosamine 투여로 혈청 및 간 조직의 콜레스테롤과 중성지방이 감소했으며, 결명자 에탄올 추출물은 이러한 지질 감소를 억제하는 효과를 나타냈다.

3. D-Galactosamine 투여로 간 조직의 AST, ALT,  $\gamma$ -GTP 및 ALP의 활성이 유의하게 증가하여 간 손상이 유발되었음을 알 수 있었으며, 결명자 에탄올 추출물은 D-galactosamine에 의해 증가된 AST와 ALT의 활성도를 유의하게 감소시켰다.

4. 결명자 에탄올 추출물은 D-galactosamine 투여로 인해 증가된 TBARS 함량을 유의하게 감소시켰다.

5. 간 조직의 SOD 활성은 D-galactosamine 투여에 의해 유의하게 감소되었다가 결명자 에탄올 추출물 투여군에서 농도의존적으로 유의하게 증가하였으며, catalase 활성도 같은 경향을 나타내었다. GPX 활성은 결명자 추출물 첨가군에서 유의하게 낮아짐을 볼 수 있었다.

D-galactosamine 투여로 인해 증가된 간 기능 관련 각종 효소의 활성 및 지질과산화물의 생성이 결명자 에탄올 추출물을 공급함으로써 개선되었다. 이상의 결과를 볼 때 결명자 에탄올 추출물이 흰쥐에 있어서 D-galactosamine 투여로 인한 간 손상을 감소시키는 효과가 있으며, 이러한 결명자 추출물의 간 보호효과의 일부는 항산화기능에 기인하는 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부 국가플랫폼기술개발 사업에 의한 결과로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Abei H. 1974. Catalase. In "Methods of Enzymatic Analysis" Vergmeyer, M.U. (ed). Academic Press, New York. 2:673-679
- Ahn BY. 2009. Desmutagenic effect of water extract from *Cassia tora* L. on the mutagenicity of N-methyl-N-nitro-N'-nitrosoguanidine in *E. coli* PQ37. *J Fd Hyg Safety* 24: 46-49
- Aviello G, Rowland I, Gill CI, Acquaviva AM, Capasso F, McCann M, Capasso R, Izzo AA, Borrelli F. 2010. Anti-proliferative effect of rhein, an anthraquinone isolated from *Cassia* species, on Caco-2 human adenocarcinoma cells. *J Cell Mol Med* 4:2006-2014
- Cho SH, Kim TH, Lee NH, Son HS, Cho IJ, Ha TY. 2005. Effects of *Cassia tora* fiber supplement on serum lipids in Korean diabetic patients. *J Med Food* 8:311-318
- Choi HJ, Han MJ, Baek NI, Kim DH, Jung HG, Kim NJ. 2006. Hepatoprotective effects of *Brassica rapa*(Turnip) on D-galactosamine induced liver injured rats. *Kor J Pharmacogn* 37:258-265
- Choi HJ, Kim EJ, Han MJ, Baek NI, Kim DH, Jung HG, Kim NJ. 2007. Hepatoprotective effect of fermented *Artemisia princeps* Pampanini by lactic acid bacteria. *Kor J Pharmacogn* 38:245-253
- Choi JS, Lee HJ, Kang SS. 1994. Alatermin, cassiaside and rubrofusarin gentiobioside, radical scavenging principles from the seeds of *Cassia tora* on DPPH radical. *Arch Phar Res* 17:462-466
- Choi JS, Lee HJ, Park KY, Ha JO, Kang SS. 1997. *In vitro* antimutagenic effects of anthraquinone aglycones and naphthopyrone glycosides from *Cassia tora*. *Planta Med* 63:11-14
- Decker K, Keppler D, Pausch J. 1973. The regulation of pyrimidine nucleotide level and its role in experimental hepatitis. *Adv Enzyme Regul* 11:205-230
- Farber JL, Gill G, Konishi Y. 1973. Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am J Pathol* 72:53-62
- Folch J, Lees M, Sloane GH. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-509
- Ha TY, Cho IJ, Lee HY. 2001b. Effect of *Cassia tora* ethanol extracts on carbon tetrachloride-induced liver injury rats. *Korean J Food Sci Technol* 33:789-794
- Ha TY, Cho IJ, Seong KS, Lee SH. 2001a. Effect of *Cassia tora* ethanol extract on the lipid levels of serum liver in rats fed high cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30:1171-1176
- Hayes AW. 1982. Principles and Methods of Toxicology. pp. 407-445. Gabriel L. Plaa and William R. Hewitt, Raben Press, New York
- Im SJ, Lee SH, Lee HS, Park MJ. 2005. Antioxidative activity of some natural products which have been orientally used as ophthalmic drugs. *J Korean Oph Opt Soc* 10:365-373
- Jang DJ, Joo HK, Cho YJ. 1989. The protective effect of the seeds of *Cassia tora* L. against carbon tetrachloride-induced hepatic injury on rats. *Analytical Sci & Technol* 2:331-335
- Keppler D, Decker K. 1969. Studies on the mechanism of galactosamine-1-phosphate and its inhibition of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Eur J Biochem* 10:219-225
- Kim KH, Han HK. 1998. The effect of mushroom extracts on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27:326-332
- Kim NY, Lee JS, Park MJ, Lee KH, Kim SH, Choi JW, Park HJ. 2004. The hepatoprotective effect of active compounds of *Kochiae fructus* on D-galactosamine-intoxicated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33:1286-1293
- Lettéron P, Labbe G, Degott C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, Larrey D, Pessayre D. 1990. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice. Evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain-breaking antioxidant. *Biochem Pharmacol* 39:2027-2034
- Lim SJ, Han HK. 1997. Hypoglycemic effect of fractions of *Cassia tora* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Soc Food Sci* 13:23-29
- Lowry OH, Rosebrough, NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275
- Marklund S, Marklund CT. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47:469-473
- Mates JM, Perex C, Castro I. 1999. Antioxidant enzymes and

- human disease. *Clin Biochem* 32:595-603
- Mutanen ML, Mukkanene HM. 1984. Effect of dietary fat on plasma glutathione peroxidase levels and intestinal absorption of <sup>75</sup>Se-labeled sodium selenite in chicks. *J Nutr* 114:829-836
- Na GM, Han HS, Ye SH, Kim HK. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Korean J Food Culture* 19:499-505
- Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95:35-41
- Pati UK, Saraf S, Kixit VK. 2004. Hypolipidemic activity of seeds of *Cassia tora* Linn. *J Ethnopharmacol* 90:249-252
- Singh B, Nadkarni JR, Vishwakarma RA, Bharate SB, Nivsarkar M, Anandjiwala S. 2012. The hydroalcoholic extract of *Cassia alata*(Linn.) leaves and its major compound rhein exhibits antiallergic activity via mast cell stabilization and lipoxygenase inhibition. *J Ethnopharmacol* 141:469-473
- Yuk DY, Lee MY, Yun YP. 2004. Effect of green tea catechin on acute hepatotoxicity in rats. *J Fd Hyg Safety* 19:105-111
- 박종희, 이정규. 1992. 상용약용식물도감. pp.26-28. 도서출판 신일산사
- 정보섭, 신민교. 1998. 도해 향약(생약)대사전(식물편). pp.813-814. 도서출판 영림사
- 
- 접 수 : 2012년 7월 27일  
최종수정 : 2012년 8월 17일  
채 택 : 2012년 8월 20일