

Protective Effects of Succinic Acid of *Succiniter* against Liver Toxicity

Hong-Bi Kim and Bae-Jin Ha*

Department of Pharmaceutical Engineering and College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan 617-736, Korea

Received March 28, 2017 / Revised July 14, 2017 / Accepted July 17, 2017

This study was performed to investigate the protective effects of succinic acid of *Succiniter* against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced hepatotoxicity in rats. After an adaptation period of one week, Sprague-Dawley rats were administered succinic acid of *Succiniter* at 200 mg/kg every day for 21 days. Then CCl₄ (3.3 ml/kg) was intraperitoneally injected into rats of the other groups except the normal group, five hours after the last treatment of succinic acid of *Succiniter* on day 21. The succinic acid-treated group showed 93.20% and 88.76% of inhibitory effects in aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities, respectively, compared with the CCl₄-treated group. The succinic acid-treated group showed inhibition of malonedialdehyde (MDA) by 85.17% compared with the CCl₄-treated group. The succinic acid-treated group in liver homogenate promoted effects of 38.65% and 47.99% in superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), respectively, compared with the CCl₄-treated group. In conclusion, the AST and ALT activities of the succinic acid-treated group were both decreased compared with the CCl₄-treated group. The MDA level of the succinic acid-treated group was decreased compared with the CCl₄-treated group. However, the SOD and CAT levels of the succinic acid-treated group in liver homogenate were both increased compared with the CCl₄-treated group. Also, histological examinations showed that the liver cell necrosis and centrilobular congestion aggregation induced by CCl₄ were clearly eliminated by treatment with succinic acid of *Succiniter*. These results suggest that succinic acid of *Succiniter* has a protective effect against liver damage and could be used in the development of the appropriate drug.

Key words : Carbon tetrachloride, hepatotoxicity, malonedialdehyde, succinic acid of *Succiniter*, superoxide dismutase

서 론

산업사회의 발달과 더불어 불규칙한 식사, 피로 등으로 인한 영양섭취의 불균형으로 면역력이 저하됨에 따라 인체의 건강을 위협하여 각종 질병이 증가하는 추세이다. 그 중 간질환은 2009년과 2010년 사망원인 통계조사에서 사망원인의 8위를 나타내고 원인은 다양한 것으로 알려져 있으며 병인학적으로 볼 때 바이러스 및 약물중독에 기인한 간질환, 알코올성 간질환, 담도기능부전에 의한 간질환 등으로 분류할 수 있다 [4, 11, 18, 28].

간질환은 간세포 괴사에 의한 약물대사 효소활성과 단백질 합성 저하와 담즙분비 억제에 의한 독성물질 배설장애, 비타민 C와 비타민 B2 등의 흡수 억제 및 지방축적에 의한 식욕부진, 전신 권태감, 피로 등의 증상을 나타낸다[4, 6]. 간세포 독성

의 유발물질로 널리 알려진 사염화탄소는 산업현장에서 쉽게 노출되는 환경공해물질로 생체 내 환원소포체의 nicotinamide adenine phosphate cytochrome P-450 monooxygenase에 의해 대사되어 trichloromethyl peroxy radical (Cl₃COO·)로 바뀌며 간세포내의 endoplasmic reticulum과 mitochondria의 막 투과성과 유동성을 변화시켜 단백질 합성과 글리코겐 양이 저하되고 microsomal enzyme 생성을 막아 각종 효소활성 변화를 초래함으로써 간세포 괴사를 일으킨다. Trichloromethyl peroxy radical (Cl₃COO·)은 소포체 막의 인지질인 polyenoic fatty acid의 methyl carbon을 공격하여 지질과산화물을 생성시키고 지질과산화물의 분해산물들이 막단백질의 변성을 일으키므로 lipoprotein의 생성과 유리를 차단하여 간독성을 증가시킨다[4, 6, 9, 21]. 간질환과 관련된 완화시킬 수 있는 생리활성 성분의 탐색과 신약개발과 관련하여 천연물의 개발에 대한 연구가 활성화되고 있다[4, 18].

호박은 삼나무과 침엽수 등의 삼출물이 수백만 년 동안 땅속에 묻혀 화석화된 수지로서 Colombian, Baltic, Fushun, Dominican 호박 등 생성된 장소에 따라 다양한 형태로 분류되고 있으며 광택, 희소성 등 아름다운 색 때문에 아주 오래 전부터 보석으로 사용되어왔고 주로 장식품, 공예품 등 종교적 의식의 찬양을 위해 사용되어 백제, 가야, 신라 등 삼국시대 이래

*Corresponding author

Tel : +82-999-5337, Fax : +82-999-5684

E-mail : bjha@silla.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

유적에서 고분, 사지, 석탑 등의 발굴 과정에서 발견되고 있거나 불복장 등의 유물형태로 발견되고 있다.

호박의 조성은 수지를 생산하는 식물에 따라 달라질 수 있는데 화학적으로 communifolic acid, communol, abietic acid, pimaric acid, biformene과 같이 물질들의 radical polymerization에 의한 고분자화에 의해 생성된다[23-26]. 호박은 숙신산(succinic acid, HOOCCH₂CH₂COOH)이 8%까지 함유되어 있는 고분자로서 에스테르화반응의 산물로 사용되고 항암효과, 피로회복에도 도움이 되며 계면활성제, 화장품 산업, 사료첨가제, 식품의 감미료, 제약과 같이 다양한 용도로 시장성이 매우 높은 고부가가치 화학물질로서 널리 이용되어 왔다[5, 12, 13, 23, 25, 27].

본 연구에서는 유기분석 호박에서 추출한 호박산이 흰쥐에서 CCl₄에 의해 유도된 간독성에 대하여 간보호 효과를 가지는지를 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

분석호박의 호박산은 (주)비존 코리아(서울관악구 봉천로, 대한민국)에서 받았으며 러시아에서 광물 형태의 유기보석인 호박을 얻어 150~350℃에 공기 흡입이 없는 상태로 가열하고 추출된 호박산을 건조시켜 가루로 분쇄하고 IR (infrared)로 멸균하여 백색분말 형태의 호박산을 제조했다.

실험동물 및 식이

몸무게가 160g 6주령인 Sprague-Dawley (SD)계 암컷을 (주)샘타코 코리아(경기도 오산시, 대한민국)에서 실험동물을 구입하여 일주일간 Auto control system기기(SS-2200, SYSTRONICS, KOREA)에서 적응시킨 후 사용하였다. 각 실험에 쓰이

Table 1. Composition of normal diet

Ingredient	Experimental diets g/100 g diet
Corn starch	59.5
Casein	22.0
L-methionine	0.3
Cellulose	4.5
Corn oil	5.0
Ash	8.0
Calcium	0.6
Phosphate	0.4

Table 2. Design of experiment

Experimental group	n	Day 1-21	Day 21
NOR	7	Water	Water
CON	7	Water	CCl ₄ (3.3 ml/kg)
PCON-CS	7	Succinic acid of <i>Succiniter</i> (200 mg/kg)	CCl ₄ (3.3 ml/kg)

는 동물을 무작위추출법(random sampling)에 의해 7마리씩 3군으로 나누어 분리시켜 실험하였다(신라대학교 동물윤리위원회에서 인증 받음. SUACUC-2016-005).

일반식이와 물을 사육기간 중에 자유로이 섭취시켰으며 사료는 (주)샘타코코리아에서 구입하였으며 사료의 조성은 Table 1과 같다. 총 21마리의 rat을 Table 2와 같이 7마리씩 3군으로 나누었고 NOR군은 water만을, CON군은 water를 먼저, PCON-CS군은 succinic acid of *Succiniter*을 200 mg/kg을 먼저 3주간 매일 투여하였다. 3주간 전처리가 끝난 직후 CON군과 PCON-CS군에서 실험동물의 간 손상을 유발시키기 위해 사염화탄소와 olive oil 1:1 비율로 용해시켜 3.3 ml/kg의 용량으로 실험동물을 해부하기 24시간 전에 복강 내로 1회 주사하여 각각 간 독성을 유발시켰으며 그리고 12시간 절식 후 혈액과 간을 채취하여 실험을 진행하였다.

실험동물의 혈액과 간 채취

실험 종료 후 rat을 CO₂가스로 마취시켜 개복한 후 하대정맥에서 혈액을 채취하여 실온에 30분간 방치한 후에 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하고 -70℃ Deep freezer에 보관하였다. 그리고 간은 rat에서 적출하여 생리 식염수로 세척한 뒤 여과지로 흡착한 후 -70℃ Deep freezer에 보관하여 실험에 사용하였다.

혈청의 효소 활성 측정

혈청 중의 Aspartate Aminotransferase (AST)와 Alanine Aminotransferase (ALT) 활성을 측정하여 간 독성을 평가하였고 AST와 ALT의 활성은 자동생화학분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm)로 측정하였다.

간 조직의 단백질 정량

단백질의 정량은 간 시료를 0.5 g 취하여 시료의 5배 용량인 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4)의 2.5 ml에 homogenation시킨 것과 mitochondrial fraction을 시료로 하고, Lowry 법[22]에 의해서 실험을 진행하였다. D.D.W 4 ml과 시료 20 ul 혼합액 중에 1 ml을 tube에 넣고 5 ml alkaline solution (100 ml Na₂CO₃ solution과 2 ml의 CuSO₄, Na-K tartrate)을 가한 후 10분간 반응시킨다. 여기에 0.5 ml의 foline 시약을 넣고 20분간 반응시킨 뒤 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백질 시료를 Bovine Serum Albumin (BSA)으로 하여 같은 방법으로 측정하여 단백질량을 정량하였다.

Malonedialdehyde (MDA) 함량 측정

간의 MDA 수치는 Ha [7]의 방법에 따라서 7% sodium dodecyl sulfate (SDS) 1 ml를 균질화 된 간 시료 0.5 ml에 혼합하고 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 급냉으로 반응을 종결시킨 후 0.67% thiobarbituric-acid 시약을 2 ml 첨가하여 98°C에서 50분간 가열하였다. 가열 후 즉시 냉각 시킨 뒤 butanol을 5 ml 첨가하고 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 원심분리 후 상등액을 취하여 535 nm의 파장에서 흡광도를 Microtiter plate reader (Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 사용하여 측정하였다. 표준 시약으로는 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TET, Sigma, Saint louis, USA)을 사용하였다.

Superoxide dismutase (SOD) 효소 활성 측정

SOD 효소 활성 측정은 Beauchamp와 Fridovich 법[3]의 변형된 방법에 따라서 0.2 M K-phosphate buffer (pH 7.4)를 672 ul, 1 mM xanthine 100 ul, 1% sodium deoxychlorate (DOC) 30 ul을 넣고 잘 섞은 후 1.5 mM KCN 30 ul, 0.2 mM cytochrome C 150 ul를 넣은 혼합액에 sample 8 ul를 넣고, xanthine oxidase (XOD) 원액 10 ul를 넣은 후 Microtiter plate reader (Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2분 동안 측정하였다. 효소의 활성도는 superoxide dismutase standard (Sigma, Saint louis, USA)를 표준액으로 사용하여 비교 측정하였다.

Catalase (CAT) 효소 활성 측정

CAT 효소 활성 측정은 Aebi 법[1]으로 측정하였다. 측정하기에 앞서 효소의 효율에 따라 결과가 달라지므로 희석 배율을 정하여 먼저 측정한 후 일정 희석 배율에서 가장 좋은 효과가 보이는 희석 배율을 선택하여 측정하였다. 30°C로 예열된 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4) 1.9 ml와 간 균질시료 0.1 ml를 첨가하여 잘 혼합한 뒤 30°C로 예열된 H₂O₂ 용액 1 ml를 첨가한 후 Microtiter plate reader (Molecular Devices Co., Sunnyvale, CA., USA)를 이용하여 240 nm에서 1분 30초간 10 번 측정한다. CAT 활성도의 표기는 U/mg protein으로 하였다.

조직병리학적 관찰

간 조직을 10% Neutral buffered formalin (Sigma, Saint louis, USA) 용액에 48시간 정도 고정시킨 후 흐르는 물에 5시간 수세하고 70%, 80%, 90%, 100% ethanol에서 순차적으로 1시간씩 탈수시켰다. 탈수시킨 조직을 xylene으로 처리 한 후 파라핀으로 포매하고 microtome을 이용해서 section하여 리본을 뜬 후 slide glass에 부착시켜 H&E으로 염색하였으며 광학현미경으로 관찰하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균과 표준편차로 나타내었고 통계적 유의성은 IBM SPSS Statistics Ver. 21 (IBM,

NY, USA)를 이용한 one-way ANOVA로 검정하였으며 사후 검증으로 Duncan's post-hoc test를 실시하였고 유의성은 $p < 0.001$ 로 하였다.

결과 및 고찰

혈청의 AST 및 ALT의 활성도 변화

간은 효소의 농도가 현저하게 높고 혈중으로 유출이 쉬운 혈행 구조를 가지고 있으므로 손상된 간으로부터 혈액에 방출되는 간의 효소 활성도 측정은 간 독성 연구에 있어서 가장 유용한 방법 중의 하나로 특히 혈청 중 AST와 ALT 등의 효소는 간 독성으로 인한 간세포 변성과 괴사, 간 조직의 파괴가 진행됨에 따라 세포가 손상되어 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내게 된다[6].

CCl₄로 간 독성을 유도한 쥐로부터 호박산의 AST와 ALT의 효과를 Fig. 1에 나타내었다. AST의 활성도는 NOR군은 81.00 ± 4.00 mg/dl, CON군은 218.33 ± 6.11 mg/dl, PCON-CS군은 90.33 ± 5.03 mg/dl로 NOR군이 CON군보다 현저히 낮은 수치를 나타내고 있으며 PCON-CS군은 CON군에 비해 93.21% 낮아지는 것으로 나타났다.

ALT의 활성도 변화는 NOR군은 55.67 ± 3.51 mg/dl, CON군은 376.00 ± 3.61 mg/dl, PCON-CS군은 91.67 ± 3.51 mg/dl 로 CON군보다 낮은 수치를 나타냈다. CON군에 비해 PCON-CS군이 88.76% 감소하는 것으로 나타났다.

Ha [8]등의 연구에서 함초의 혈청 AST 및 ALT활성도 실험 결과 함초투여군에서 65.56%, 59.04%로 유의적으로 감소하는 것을 나타냈다. 호박산은 CCl₄로 유발된 흰 쥐의 AST와 ALT의 활성도 감소를 함초보다 더욱 효과적으로 나타내었으며 호박산이 간 조직 파괴를 억제하여 간 독성으로 인한 세포 괴사와 간 손상에 대해서 더욱 강한 보호효과가 있는 것으로 사료된다.

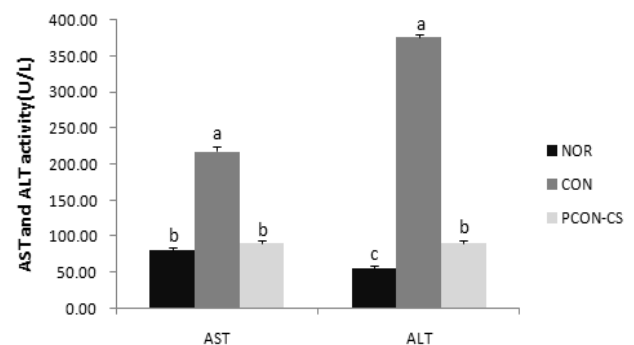


Fig. 1. Effect of succinic acid on AST and ALT activity in serum. NOR: Normal group, CON: CCl₄-treated group, PCON-CS: Succinic acid of Succiniter + CCl₄-treated group. All the values were expressed as means ± S.D. (n=7), a, b, c are different ($p < 0.001$) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

MDA 함량 측정

활성산소는 세포막의 불포화 지방산과 일련의 연쇄반응을 통하여 지질과산화의 유발을 촉진하고 그 결과로 생성되는 지질과산화물을 비롯하여 여러 가지 체내 과산화물의 함량이 증가되어 간세포의 산화적 손상을 발생시키고 간손상에 의한 생리적 기능을 저하시키므로 노화와 유전적 장애의 원인이 되기도 한다[21].

CCl₄로 유도한 쥐로부터 간 조직의 과산화지질의 생성 정도를 알 수 있는 MDA 함량을 Fig. 2에 나타내었다. NOR군은 12.28±0.61 nmol/mg protein, CON군은 33.93±1.40 nmol/mg protein, PCON-CS군은 15.49±0.69 nmol/mg protein로 PCON-CS군이 CON군보다 낮은 수치를 보였다. PCON-CS군은 CON군보다 85.17% 감소한 것으로 나타났다.

Ha [9] 등의 연구에서 삼백초 건조 추출물은 MDA 측정 결과 CCl₄로 처리한 군에 비해 33.00%의 억제율을 보이는 것으로 나타났다. 삼백초보다 더 뛰어난 억제율을 보여준 호박산은 CCl₄ 투여가 지질과산화물의 질량을 증가시켰지만 활성산소를 제거시켜 지질과산화물 유발을 강력하게 억제한 것으로 사료된다.

SOD 효소 활성 측정

SOD는 세포 내에서 정상적인 대사과정에서 생성된 superoxide anion radical에 의해 생기는 산화적 손상에 대한 세포내 방어기전에서 일차적으로 관여하는 항산화효소로 생체 독성을 감소하는 것으로 알려져 있다[8].

사염화탄소로 간독성을 유도한 rat의 간 균질액에서 SOD의 활성 변화는 Fig. 3과 같다. NOR군이 9.08±0.17 nmol/mg protein, CON군이 2.77±0.46 nmol/mg protein, PCON-CS군이 5.21±0.66 nmol/mg protein로 PCON-CS군은 CCl₄를 투여한 CON군보다 38.67% 증가하였다.

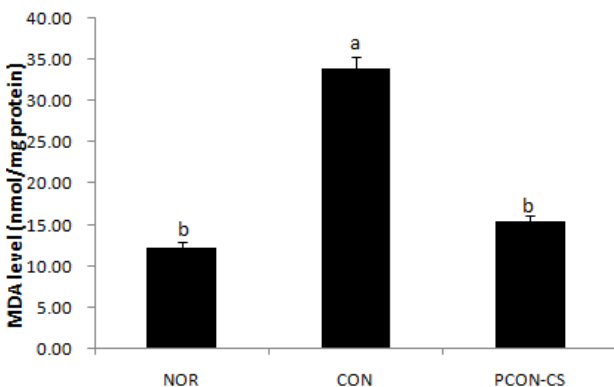


Fig. 2. Effect of succinic acid on MDA levels in liver homogenate. NOR: Normal group, CON: CCl₄-treated group, PCON-CS: Succinic acid of *Succiniter* + CCl₄-treated group. All the values were expressed as means ± S.D. (n=7), a, b, c are different (p<0.001) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

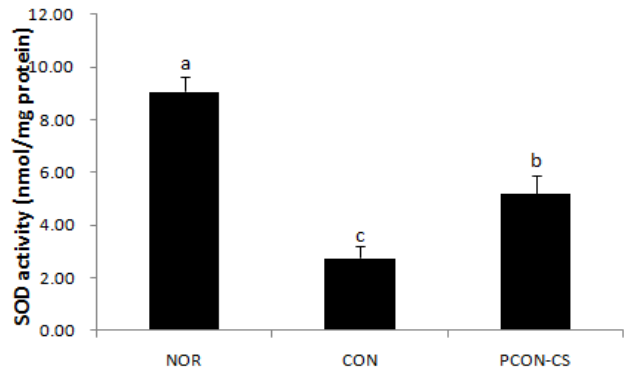


Fig. 3. Effect of succinic acid on SOD activities in liver homogenate. NOR: Normal group, CON: CCl₄-treated group, PCON-CS: Succinic acid of *Succiniter* + CCl₄-treated group. All the values were expressed as means ± S.D. (n=7), a, b, c are different (p<0.001) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

Kwon [20] 등의 연구에서 막걸리의 SOD 효소 활성을 측정 한 결과 막걸리는 LPS만 처리한 군에 비해 23.29% 증가하는 것으로 확인하였으며 막걸리보다 더 증가율이 높은 호박산간의 산화적 손상에 대한 방어기전인 SOD 활성 증가에 보다 더 강력한 항산화물질로 사료된다.

CAT 효소 활성 측정

CAT는 생체 내 생명 현상에서 필수적인 산화환원반응의 일종으로 활성산소를 제거하는 과정에서 생성되는 H₂O₂를 H₂O와 O₂로 분해하는 항산화효소이다. 이것은 세포 내에서 생성된 다수의 H₂O₂생성효소들과 복합체를 형성하여 세포내 peroxisomes에 주로 분포되어 있고 H₂O₂농도가 높을 때 조직 손상을 방어하여 독성을 제거하는 효과가 있다고 알려져 있다 [11, 16].

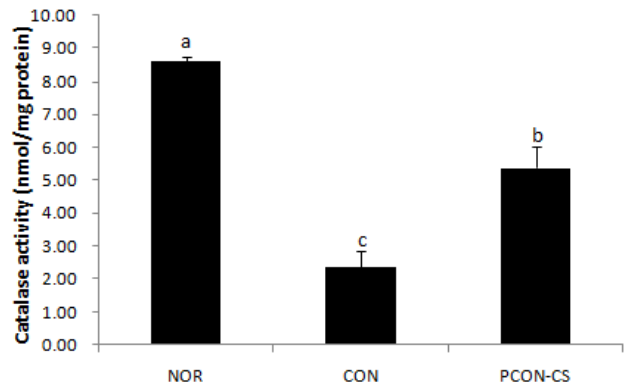


Fig. 4. Effect of succinic acid on CAT activities in liver homogenate. NOR: Normal group, CON: CCl₄-treated group, PCON-CS: Succinic acid of *Succiniter* + CCl₄-treated group. All the values were expressed as means ± S.D. (n=7), a, b, c are different (p<0.001) group by one-way ANOVA followed by Duncan's post hoc test.

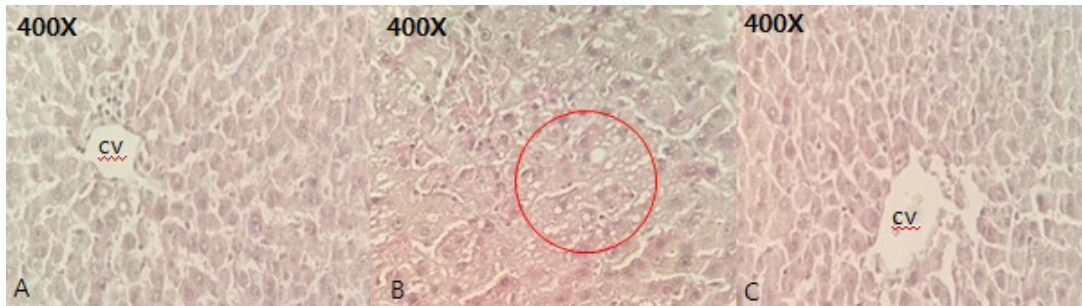


Fig. 5. Histopathologic examination of liver tissue (H&E Staining, 400×). A. NOR: Normal group, B. CON: CCl₄-treated group, C. PCON-CS: Succinic acid of *Succiniter* + CCl₄-treated group.

사염화탄소로 유도한 rat의 간 균질액에서 CAT의 활성 변화는 Fig. 4와 같다. NOR군은 8.62±0.10 nmol/mg protein, CON군이 2.37±0.49 nmol/mg protein, PCON-CS군이 5.37±0.65 nmol/mg protein로 CON군은 NOR군보다 현저히 낮은 수치를 나타냈으며 호박산을 투여한 PCON-CS군은 CON군에 비해 48.00% 증가하였다.

Jeong [14] 등의 연구에서 고본의 CAT 활성을 측정한 결과 고본 추출물은 CCl₄ 투여군에 비해 35.04% 증가하는 것으로 나타났으며 고본보다 더 높은 CAT의 증가율을 보인 호박산은 세포 내에서 생성된 과산화수소를 소거하여 조직 손상을 방어하고 간 기능을 회복하는 것으로 사료된다.

조직병리학적 변화

CCl₄에 의한 조직학적 병변으로는 지질과산화 과정에서 형성되는 free radical에 의한 중심소엽주위에 집중된 괴사와 염증세포 침윤 등으로 알려져 있다. CCl₄로부터 toxic free radical인 CCl₃를 형성시키는 효소인 cytochrome P450이 중심소엽 부위에 고농도로 존재하므로 세포괴사가 이 부위에 집중적으로 나타나게 된다[6].

H&E으로 염색한 조직을 광학현미경(400배)으로 관찰한 결과를 Fig. 5에 나타내었다. NOR군과 PCON-CS군에서는 간 조직이 중심정맥을 중심으로 잘 짜여진 구조를 관찰할 수 있었으나, CCl₄를 투여한 CON군의 간 조직은 중심정맥 주위의 울혈과 간세포 괴사가 보이고 있으며, 손상부위에 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 이에 비해 PCON-CS군에서는 울혈과 세포 괴사가 완화되어 CON군보다는 상당히 개선되었음을 보여주었다.

Chon [4] 등의 연구에서 흰점박이꽃무지 추출물의 조직학적 변화를 알아본 결과 사염화탄소군의 간 조직에서 간세포가 괴사됨을 알 수 있었다.

특히 중심정맥 오른쪽에 염증세포가 증가됨을 확인할 수 있었고 흰점박이꽃무지 투여군은 중심정맥 쪽에 아주 경미한 허혈성 변성 이외에는 다른 병변을 찾을 수 없었으며 간 보호 활성을 나타내는 결과를 보여주었다.

이에 호박산도 유사한 결과를 초래하는 것으로 보아 간 보

호효과를 나타내는 것으로 사료된다.

결론적으로 유기보석인 호박에서 추출된 호박산은 사염화탄소로 유도된 간 독성에 대하여 함초, 삼백초, 막걸리, 흰점박이꽃무지 추출물 등의 활성보다 더 좋은 효능이 있다고 것으로 밝혀져 호박산은 간 보호 기능의 약제로서 이용될 수 있는 가능성을 보여주었다.

감사의 글

본 논문은 2017년도 부산광역시 의 재원(Brain Busan 21)으로 지원 받아 수행되었음.

References

1. Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro* methods. *Enzymology* **105**, 121-126.
2. Bae, S. J., Kim, N. H., Ha, B. J., Jung, B. M. and Roh, S. B. 1997. Effects of Godulbaegi leaf extracts on ccl₄-induced hepatotoxicity in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 197-143.
3. Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
4. Chon, J. W., Kweon, H. Y., Jo, Y. Y., Yeo, J. H. and Lee, H. S. 2012. Protective effects of extracts of protaetia brevitarsis on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the mice. *J. Seric. Entomol. Sci.* **50**, 93-100.
5. Chung, H. J., Seo, J. G. and Park, J. W. 2009. Characterization of sun spangle formation in the transparent baltic amber by heat treatment. *J. Miner. Soc. Korea* **22**, 395-405.
6. Ha, B. J. 2006. Effects of *Rhynchosia molubilis* saponin on hepatotoxicity and pathology. *J. Life Sci.* **16**, 186-191.
7. Ha, B. J. 1985. Studies on the Antilipidperoxidation effect of Brazilin and Hematoxylin. Ph. D. Dissertation. Seoul university, Seoul, Korea.
8. Ha, B. J. and Lee, S. H. 2006. The protective effects of *Salicornia herbacea* L. against liver toxicity. *J. Life Sci.* **16**, 95-100.
9. Ha, B. J., Ha, J. M., Lee, S. H., Lee, J. Y. and Park, S. Y.

2003. Protective effects of saururus chinensis baill extracts on liver cell. *J. Fd. Hyg. Safety.* **18**, 177-182.
10. Ha, B. J., Lee, S. H., Park, E. K., Nam, C. S. and Kang, K. S. 2006. The effects of cadmium in serum and liver. *J. Fusion Technol.* **1**, 27-31.10.
11. Heo, Y. Y., Kwon, R. H., Ha, M. S. and Ha, B. J. 2009. The effects of solanum nigum linne extract on the hepatotoxicity of rats induced by lipopolysaccharide. *J. Fd. Hyg. Safety.* **24**, 285-290.
12. Hong, Y. K., Huh, Y. S. and Hong, W. H. 2005. Application of reactive extraction to biological production of succinic acid. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **20**, 142-148.
13. Huh, Y. S., Hong, Y. K., Jn, Y. S. and Hong, W. H. 2015. Selective removal of acetic acid for the effective production of succinic acid using the various amine extractants and solvents. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **20**, 238-243.
14. Jeong, C. S. and Jung, K. H. 2002. Protective effects of *Angelica tenuissima* Nakai on hepatotoxicity by carbon tetrachloride in rats. *J. Appl. Pharmacol.* **10**, 211-217.
15. Kang, K. I., Jung, J. Y., Koh, K. H. and Lee, C. H. 2006. Hepatoprotective effects of *Lycium chinense* mill fruit extracts and fresh fruit junice. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **38**, 99-103.
16. Kim, I. D., Kwon, R. H., Heo, Y. Y., Lee, D. G., Lee, J. H., Lee, S. H., Ha, J. M. and Ha, B. J. 2008. The preventive effects of paeoniae radix extract against LPS-induced acute hepatotoxicity. *J. Fd. Hyg. Safety.* **23**, 222-226.
17. Kim, O. K. 2001. Protective effects of extracts of *Hovenia dulcis* thunb on hepatotoxicity in carbon tetrachloride intoxicated rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 1260-1265.
18. Kim, Y. J., You, Y. H. and Jun, W. J. 2012. Hepatoprotective activity of fermented *Curcuma longa* L. on galactosamine-intoxicated rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 790-795.
19. Kwon, M. J. and Nam, T. J. 2006. Protective effects of me-sangi (*Capsosiphon fulvecens*) on hepatotoxicity in carbon tetrachloride (CCl₄)-intoxicated rats. *J. Life Sci.* **16**, 734-739.
20. Kwon, R. H., Chae, G. Y. and Ha, B. J. 2011. The effects of the makgeolri on the antioxidative activity in the endotoxin LPS-treated rats. *J. Fd. Hyg. Safety.* **26**, 166-170.
21. Lim, B. L. 2008. Protective effect of fermented aloe vera on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in sprague-dawley. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**, 240-245.
22. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. J., Farr, A. S. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 256-261.
23. Park, J. S. 2013. Analysis of changes in composition of amber sith ageing using pyrolysis/GC/MS. *Anal. Sci. Technol.* **26**, 190-198.
24. Park, J. S. and Lim, Y. J. 2011. Analysis of ambers with different origin by IR and py/GC/MS. *Anal. Sci. Technol.* **24**, 256-265.
25. Park, J. S. and Lim, Y. J. 2012. Changes in IR spectra of ambers with accelerated aging. *J. Conservation Sci.* **28**, 247-256.
26. Park, J. S. and Lim, Y. J. 2012. Change of fluorescence in ambers according to artificial aging. *Anal. Sci. Technol.* **25**, 197-206.
27. Park, S. M. and Chun, G. T. 2014. Statistical optimization of production medium for enhanced production of succinic acid produced by anaerobic fermentations of actinobacillus succinogenes. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **29**, 165-178.
28. Park, Y. M., Lim, J. H., Lee, J. E. and Seo, E. W. 2015. Protective effect of semisulcospira libertina extract on induced hepatitis in rats. *J. Life Sci.* **25**, 539-547.

초록 : 간 독성에 대한 보석 호박 호박산의 간 보호 효과

김흥비 · 하배진*

(신라대학교 바이오과학과 제약공학전공)

본 연구는 CCl₄로 간 손상이 유도된 흰 쥐에서 호박산의 간 보호 효과 정도를 알아보기 위하여 수행되었다. 실험을 하기 위해 정상군(NOR), CCl₄처리군(CON), 보석호박섭취군(PCON-CS)군으로 나누어 1주일 적응기간을 가진 SD계 흰 쥐에 보석호박산을 일정한 시간에 200 mg/kg으로 3주간 투여하였다. 21일째 되는 날 마지막 투여 5시간 후에 정상군을 제외한 다른 그룹의 쥐에게 CCl₄를 복강주사 하였다. 보석호박섭취군은 CCl₄처리군에 비해 AST, ALT 활성은 93.20%, 88.76% 각각 억제효과를 보였고 MDA는 CCl₄처리군에 비해 85.17% 억제효과를 보였다. 보석호박섭취군의 SOD와 CAT는 CCl₄처리군에 비해 38.65%, 47.99% 증가효과를 보였다, 결론적으로 AST, ALT 활성도와 MDA 수치는 보석호박섭취군이 CCl₄처리군에 비하여 유의적으로 감소하여 정상군과 비슷한 수치를 나타내었고 SOD와 CAT효소 활성은 보석호박섭취군이 CCl₄처리군에 비하여 증가하였다. 또한 조직학적 관찰은 사염화탄소로 유도된 간경변과 세포괴사가 호박산에 의해 예방된 것으로 나타났다. 이 데이터들로 확인해보면 CCl₄로 유도된 간 독성을 호박산이 간을 보호하는 결과를 나타냈으며, 이는 호박산이 간 손상에 대한 보호 효과를 가진 약물의 소재개발에 이용 될 수 있다고 본다.