



구기자 복합물 약침액이 간기능 개선에 미치는 영향

김용민¹ · 황동석² · 곽병문³ · 김이화³

¹세명대학교 한방화장품과학과, ²로빈한의원, ³세명대학교 한의과대학 경락경혈학교실

Protective Effect of Herbal Mixture Including Lycii Fructus on Hepatotoxicity Induced by Thioacetamide in Mice

Yong-Min Kim¹, Dong-Suk Hwang², Byeong-Mun Kwak³, Ee-Hwa Kim³

¹Department of Oriental Medical and Herbal Cosmetic Sciences, Semyung University,

²Robin Korean Medical Clinic,

³Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Semyung University

Objectives : This study investigated the hepatoprotective effect of herbal mixture including *Lycii fructus* (HML) in thioacetamide (TAA)-induced hepatotoxicity in mice. **Methods :** To confirm the liver protective effect, induced by TAA for 3 days injection at 100 mg/kg mice, HML were treated for 8 weeks at 300 mg/kg/day, 1000 mg/kg/day. Positive control was treated silymarin 50 mg/kg/day after TAA injection. The changes of mortality rate, clinical signs, organ weight, relative liver, blood chemistry and histopathological findings were analyzed after experiment. **Results :** Body weight gain was observed in all groups, but TAA treated group at 4th week and all treated groups decreased weight compared to the untreated group. As a result of organ weight measurement, organ weight gain due to hepatic injury was observed statistically significantly in TAA-treated group and TAA+Silymarin treated group, and the herbal mixture-treated group showed a tendency to decrease compared to the TAA treated group. Blood biochemistry showed that total cholesterol and very low density lipoprotein cholesterol decreased statistically in TAA+low-dose and high dose herbal mixture treated group compared to the TAA-treated group. Histopathological examination showed that liver abnormalities were not observed in untreated group, liver fibrosis was observed in liver injury with TAA treated and herbal mixture treated group. And, TAA+high dose herbal mixture group showed relaxation tendency on liver calcification compared to the TAA treated group. **Conclusions :** According to the above results, HML provided hepatoprotective effects on the hepatic injury by reduction of inflammatory responses.

Key words : liver injury, hepatitis, thioacetamide, lycii fructus

서론

현대사회에서는 의료과학의 발전으로 평균수명은 증가하고 있으나 급속한 경제성장에 따라 서구화된 식습관, 불규칙한 식사, 스트레스, 과도한 음주 등으로 인한 간질환, 비만, 당뇨, 고혈압, 암

등과 같은 성인병 및 난치병 등의 만성질환 발병율이 증가하고 있다. 그 중 간질환은 사망원인 중 전체 8위에 해당되며 간질환 환자의 발병률 또한 증가되는 추세이다¹⁻³⁾.

간질환은 산화적 스트레스, 바이러스성, 알콜성, 약물성 등의 원인으로 염증반응이 생기며, 이 염증반응이 간염을 일으키고, 만성

Received September 15, 2019, Revised November 7, 2019, Accepted November 8, 2019

Corresponding author: **Ee-Hwa Kim**

Department of Meridian and Acupoint, College of Korean Medicine, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon 27136, Korea

Tel: +82-43-649-1348, Fax: +82-43-649-1702, E-mail: kimeh@semyung.ac.kr

이 논문은 2017년도 세명대학교 교내연구비 지원을 받아 수행되었음.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

간염이 지속되어 악화하는 경우 간섬유화(fibrosis), 간경변증, 간암 등으로 진행되며 사망에 이르게 되는 것으로 알려져 있다^{4,5)}.

간독성 물질인 thioacetamide (TAA)는 만성 간질환 즉, 만성간염, 간경화, 간암등의 실험모델로 사용되고 있다⁶⁾. TAA는 간 microsomal mixed-function oxidase에 의해 생체전환되어 급성 및 만성 간손상을 유발한다^{7,8)}. TAA의 일회투여후 급성 간괴사가 보고되었으며, 간괴사의 병인으로 간 세포막 효소들의 변화, microchondria의 변화와 bile canalicular membrane과 tight junctions의 변화가 관찰되었다⁹⁻¹¹⁾. 또한 TAA는 간세포에 Ca⁺⁺을 비정상적으로 유입시킴으로써 산화적 인산화 작용을 억제하여 간세포 호흡대사를 억제한다. 약물투여 초기에 대사적 손상을 유발하고 결과적으로 간경변, 간세포 증식, 실질 세포괴사 등을 초래한다^{12,13)}.

본 연구에 사용되어진 대표적인 한약재인 구기자는 허약, 만성 소모성 질환, 신장 및 간의 보호작용, 콜레스테롤 저하작용, 혈압강화작용 등 여러 가지 질병의 예방 및 치료에 사용되어지고 있다¹⁴⁾. 최근 연구에 의하면 구기자는 혈당과 콜레스테롤 저하작용이 있다고 보고하였으며, 간손상 실험모델에서 구기자를 경구투여시에 간손상 보호작용을 보고하였다^{15,16)}. 또한 Yoon 등은 구기자 추출물 함유 알코올을 실험동물에 응용시켰을 때 알코올에 의하여 생성된 유해산소와 acetaldehyde의 해독효소활성이 증가됨을 관찰하였다¹⁷⁾. 그러나, 구기자를 포함한 복합 한약추출물에 의한 간손상 보호작용에 대한 연구는 미미한 실정이다.

이에 본 연구에서는 TAA로 유발된 간손상 동물모델에서 구기자 복합물 약침액의 간 보호효과를 규명하고, 이를 간보호제로 알려진 silymarin과 비교하고자 하였다. 실험용 마우스에 TAA 간손상 모델을 이용하여, 마우스 체중변화, 혈액학적인 분석 및 조직학적인 분석을 통하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 동물

동물은 체중 20±1.0 g의 BALB/c 웅성 마우스를 사용하였으며, 사료는 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 2주 이상 적응시킨 후 사용하였다. 본 실험은 동물실험에 대한 과학적, 윤리적 타당성을 검토하고, 효율적인 관리를 위하여 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 : IAC2016-0913)을 받았다.

2) 약제

본 실험에 사용된 약제는 (주)HMAX에서 구입하였으며, 용량은 다음과 같다(Table 1).

3) 시료조제

본 연구에 사용된 한약재들을 3차 증류수 1,000 ml와 함께 넣은 뒤 heating mantle을 이용하여 4시간동안 가열하고 6시간 냉각시켜 구기자복합 추출물을 제조하였다. 추출물을 얻은 후 거즈로 1차 여과 한 후 여과지로 2차 여과를 진행하였다. 여과를 마친 후 여과액을 감압 농축하여 100 ml 농축액을 얻었다. 농축액을 -80℃ 냉동고에 얼린 후 동결건조 한 뒤 분말을 얻어 시료로 사용하였다. 동결건조 추출물은 30 g을 얻었고 수율은 약 19%이다.

2. 실험방법

1) 실험동물군 분리

정상대조군, 복합물투여군, TAA 투여군, TAA+양성대조군, TAA+저농도 복합물투여군, TAA+고농도 복합물 투여군으로 구별하여 한 군에 8마리씩 배정하였다. 정상대조군은 고형사료와 물을 충분히 공급하였고, 복합물투여군은 복합물을 1,000 mg/kg/day 투여하였고, TAA 투여군은 TAA를 투여하였고, TAA+양성대조군은 TAA투여 후 silymarin 50 mg/kg/day로 투여하였고, TAA+저농도 복합물투여군은 TAA 투여후 복합물 300 mg/kg/day 투여하였고, TAA+고농도 복합물투여군은 TAA 투여후 복합물 1,000 mg/kg/day로 경구투여 하였다. 양성대조군인 silymarin은 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, USA)제품으로 사용하였다 (Table 2).

2) 검액투여

시험물질은 1회 1일, 1주일에 5일, 총 8주간 구강투여하였으며 용량은 4 ml/kg로 산정하였다.

Table 1. Contents of Herbal Mixture

Name	Weight (g)
<i>Lycium chinesis</i> Miller	40 g
<i>Actinidia polygama</i> Miquel	32 g
<i>Chaenomelis sinensis</i> Koehne	12 g
<i>Phragmites communis</i> Trinius	12 g
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seeman	12 g
<i>Pueraria lobata</i> Ohwi	12 g
<i>Valeriana fauriei</i> Briquet	12 g
<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini	12 g
<i>Zizyphou jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i>	8 g
<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer	8 g
	160 g

3) 간손상유발

BALB/c mouse 수컷(7주령)에게 TAA로 간 섬유화를 유발하였다. TAA를 생리식염수에 녹인 후 100 mg/kg으로 3일간 복강 주사하였다. 혈액 및 간 조직의 채취 전 전체 실험군은 18시간 이상 절식시켰다.

4) 체중의 측정

실험동물의 체중은 도입시, 군 분리시, 투여 개시 후 매주 1회 및 부검 당일에 측정하였다.

5) 장기중량 측정

실험동물은 동물마취제(Zoletil)로 마취하여 채혈 및 안락사시킨 다음 육안적 검사를 실시한 후에 장기에 대한 중량을 측정하였고, 절식체중에 대한 상대장기중량비를 측정하였다.

6) 생화학적 검사

모든 동물에 대하여 채혈 전에 약 18 시간 이상 절식시킨 실험동물을 동물마취제로 마취하여 심장으로부터 채혈하였다. 채취한 혈액은 실온에서 응고시킨 다음 냉장원심분리(3,000 rpm, 4°C 10 분)하여 혈청을 취하였고, 간 조직은 perfusing 후 동일한 크기로 일부를 취하여 조직 1 g 당 10배의 5%의 Metaphosphoric acid를 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을

12,000×g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 채취한 시료는 ELISA (Enspire Multimode Reader, PerkinElmer, MA, USA)를 통한 분석과 의료법인인 이원의료재단(Eone Reference Laboratory, Seoul, Korea)에 의뢰하여 다음과 같이 측정하였다 (Table 3).

7) 조직병리학적 검사

각 투여군의 모든 개체별로 간(Liver)을 적출한 다음 10% neutral buffer formalin에 24시간 이상 고정하여 건국대학교 수 의과대학 수의예과에 조직병리학적 검사를 의뢰하였다. 고정시킨 각 조직들을 흐르는 물로 충분히 수세하고 70, 80, 90 및 100% 에틸알코올로 단계적으로 탈수 후 paraffin 투과과정을 거쳐 포매 하였다. 박절편기로 약 4 μm 두께로 박절하여 hematoxylin-eosin (HE) 염색을 실시하였다. 간섬유화는 다음과 같이 네 단계로 평가하였으며; stage 1, expansion of the portal tracts without linkage; stage 2, portal expansion with portal to portal linkage; stage 3, extensive portal to portal and focal portal to central linkage; and stage 4, cirrhosis, 간석회화(liver

Table 2. Experimental Groups

Group	Treatment	Volume (mg/kg)
I	Untreated	0
II	Herbal mixture	1,000
III	TAA	0
IV	TAA+Silymarin	50
V	TAA+Herbal Mixture	300
VI	TAA+Herbal Mixture	1,000

I : Untreated group, II : Herbal mixture group, III : TAA group, IV : TAA+positive control group, V : TAA+low dose herbal mixture group, VI : TAA+high dose herbal mixture group.

Table 4. Mortality Rate and Clinical Signs

Sex	Group	No. of animal	Mortality (dead/total)	Clinical observation	Week (s)								
					1	2	3	4	5	6	7	8	
Male	I	8	0% (0/8) ^a	N	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	II	8	12.5% (1/8)	N	8	8	8	8	7	7	7	7	
	III	8	0% (0/8)	N	8	8	8	8	8	8	8	8	
	IV	8	0% (0/8)	N	8	8	8	8	8	8	8	8	
	V	8	0% (0/8)	N	8	8	8	8	8	8	8	8	
	VI	8	12.5% (1/8)	N	8	8	8	7	7	7	7	7	

^a : Number of dead animals/Number of tested animals.

N : Normal.

I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture group (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1000 mg/kg).

Table 3. Biochemistry Test

Item	Unit
Total Cholesterol	mg/dl
LDL-Cholesterol	mg/dl
HDL-Cholesterol	mg/dl
VLDL-Cholesterol	mg/dl
Albumin	g/dl
ALT (SGPT)	U/l
AST (SGOT)	U/l
GSH/GSSG	-

LDL : low density lipoprotein, HDL : high density lipoprotein, VLDL : very low density lipoprotein, ALT : alanine aminotransferase, AST : aspartate aminotransferase, GSH/GSSG : Reduced Glutathione/Oxidized Glutathione.

Table 5. Body Weight

Sex	Group		Body weight (g) on weeks								
			0	1	2	3	4	5	6	7	8
Male	I	Mean (S.D.)	21.32 (0.81)	21.89 (1.17)	22.06 (1.04)	22.88 (1.08)	23.44 (1.07)	24.85 (1.09)	25.38 (1.13)	26.67 (0.94)	26.76 (0.90)
		Mean (S.D.)	21.31 (0.73)	22.06 (0.61)	22.09 (0.77)	22.29 (0.64)	22.91 (0.67)	24.84 (1.88)	25.32 (1.61)	26.58 (1.60)	27.08 (1.03)
	III	Mean (S.D.)	21.82 (1.06)	21.28 (0.65)	21.88 (1.29)	22.44 (1.57)	22.18 (1.39)	24.60 (1.89)	24.23 (1.76)	25.17 (2.02)	26.43 (2.50)
		Mean (S.D.)	21.54 (0.43)	21.21 (1.31)	21.76 (0.90)	22.31 (0.91)	22.05 (0.99)*	24.35 (0.66)	24.41 (1.36)	25.24 (1.11)	24.85 (1.79)
	V	Mean (S.D.)	21.40 (0.72)	21.36 (1.14)	20.73 (0.61)	21.25 (0.60)	21.24 (0.76)**	23.47 (0.98)	24.38 (0.92)	24.71 (1.99)	25.57 (1.53)
		Mean (S.D.)	21.72 (1.11)	21.63 (1.44)	21.28 (1.34)	20.94 (1.90)	21.48 (1.30)*	23.48 (2.54)	22.55 (2.35)	24.97 (2.07)	23.56 (2.22)

S.D. : Standard deviation.

* : Signification difference as compared with control (I) ($p < 0.05$). ** : Signification difference as compared with control (I) ($p < 0.01$).
I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

Table 6. Organ Weight and Relative Liver

Sex	Group		Absolute liver	Relative liver
			(g)	(%)
Male	I	Mean (S.D.)	1.00 (0.05)	3.72 (0.11)
		Mean (S.D.)	0.93 (0.07)	3.44 (0.27)
	III	Mean (S.D.)	1.43 (0.21)*	5.38 (0.33)
		Mean (S.D.)	1.25 (0.09)*	5.02 (0.21)
	V	Mean (S.D.)	1.25 (0.12)	4.88 (0.52)
		Mean (S.D.)	1.17 (0.07)	4.99 (0.34)

^a : index (%)=(Absolute organ weight/body weight at sacrifice) × 100.

S.D. : Standard deviation.

* : Signification difference as compared with control (I) ($p < 0.05$).
I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

calcification)의 정도는 다음과 같이 네 단계로 평가하였다; stage 1, slight; stage 2, mild; stage 3, moderate; stage 4, severe.

3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS (ver. 11.0)을 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균±표준오차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons (Tukey's method)으로 분석하였다. 유의수준은 0.05로 하였다.

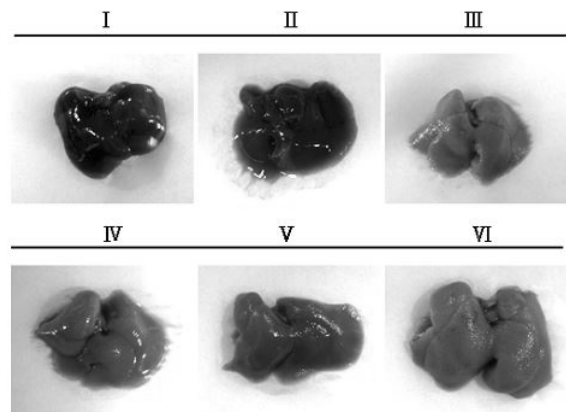


Fig. 1. Macroscopic appearance of liver.

I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

결 과

1. 사망률 및 임상조건

투여기간 동안, II그룹 (복합물투여군) 및 VI그룹 (TAA+고농도 복합물투여군)에서 1마리씩 사망 동물이 관찰되었다. 또한 별다른 임상조건은 보이지 않았다(Table 4).

2. 체중변화 측정

투여기간 동안, 모든 투여군에서 체중증가가 관찰되었으나 4주

Table 7. Biochemistry Parameters

Sex	Group		T-CHO (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	ALT (U/L)	AST (U/L)	ALB (g/dL)	GSH/ GSSG
Male	I	Mean (S.D.)	102.13 (8.25)	74.21 (5.47)	4.75 (0.46)	26.30 (4.21)	33.50 (12.21)	171.00 (82.71)	2.95 (0.16)	4.80 (1.06)
	II	Mean (S.D.)	104.00 (7.53)	71.80 (6.85)	5.86 (0.90)	23.93 (1.96)	74.86 (50.89)	137.71 (53.51)	3.00 (0.38)	4.94 (2.98)
	III	Mean (S.D.)	158.13 (11.62)	101.58 (6.20)	11.75 (2.82)	44.80 (9.59)	302.14 (104.01)	285.43 (85.31)	3.49 (0.06)	5.95 (1.58)
	IV	Mean (S.D.)	150.25 (16.85)	93.15 (7.51)	10.88 (1.89)	46.23 (10.27)	347.50 (70.35)	232.88 (30.65)	3.52 (0.11)	7.53 (1.54)
	V	Mean (S.D.)	137.0 (6.74)**	96.11 (3.48)	9.88 (1.55)	31.01 (7.82)**	204.88 (29.38)	170.38 (41.55)	3.45 (0.13)	7.82 (1.45)
	VI	Mean (S.D.)	140.86 (10.09)*	95.24 (8.24)	19.00 (3.00)	26.61 (2.59)***	335.00 (115.78)	339.00 (135.25)	3.65 (0.12)	7.69 (1.23)

S.D. : Standard deviation.

* : Signification difference as compared with TAA control (III) ($p < 0.05$). ** : Signification difference as compared with TAA control (III) ($p < 0.01$). *** : Signification difference as compared with TAA control (III) ($p < 0.001$).

T-CHO : total cholesterol, HDL : high density lipoprotein, LDL : low density lipoprotein, VLDL : very low density lipoprotein, ALT : alanine aminotransferase, AST : aspartate aminotransferase, ALB : albumin, GSH/GSSG : Reduced Glutathione/Oxidized Glutathione, I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

Table 8. Histopathological Findings

Sex	Group		Calcification	Fibrosis
Male	I	Mean (S.D.)	0 (0)	0 (0)
	II	Mean (S.D.)	0.57 (1.13)	0 (0)
	III	Mean (S.D.)	2.60 (0.55)	2.50 (0.54)
	IV	Mean (S.D.)	2.71 (0.76)	2.88 (0.35)
	V	Mean (S.D.)	1.81 (0.92)	2.63 (0.74)
	VI	Mean (S.D.)	1.13 (0.58)*	3.00 (0)

S.D. : Standard deviation.

* : Signification difference as compared with TAA control (III) ($p < 0.05$).

I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

차 TAA 투여 및 모든 시험물질 투여군에서 정상대조군 대비 체중 증가가 감소하는 경향이 관찰되었다(Table 5).

3. 장기중량측정

부검 시 간을 적출하여 장기중량을 측정 한 결과, TAA 투여군 및 TAA+양성대조군에서 통계적으로 유의하게 간 손상 유발로 인한 장기중량 증가가 관찰되었으며, 시험물질 투여군의 경우 간 손상 유발군에 비해 감소하는 경향이 관찰되었다(Table 6, Fig. 1).

4. 생화학적 검사

혈액생화학적 검사 결과, TAA+저농도 복합물 투여군, VI :

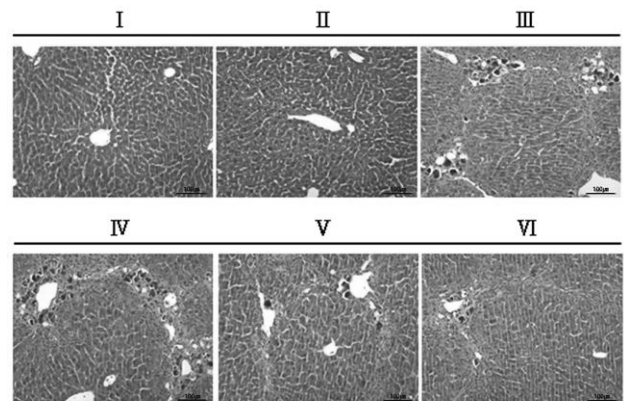


Fig. 2. Histopathological analysis of mouse livers after 8 weeks of TAA treatment.

H&E stain revealed calcification and fibrosis. I : untreated group, II : treated with herbal mixture (1,000 mg/kg), III : treated with TAA, IV : treated with TAA and Silymarin (50 mg/kg), V : treated with TAA and low dose herbal mixture (300 mg/kg), VI : treated with TAA and high dose herbal mixture (1,000 mg/kg).

TAA+고농도 복합물 투여군에서 T-CHO 및 VLDL이 TAA 투여군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 감소하는 경향이 관찰되었다(Table 7).

5. 조직병리학적 검사

조직병리학적 검사결과, 간의 경우 정상대조군에서는 비정상적 조직학적 소견은 관찰되지 않았고, 간 손상 유발군 및 시험물질

투여군에서 간섬유화가 관찰되었으며, 간석회화의 병변 현상은 간손상 유발군 대비 TAA+고농도 복합물 투여군에서 완화된 경향이 관찰되었다(Table 8, Fig. 2).

고찰

간질환은 간염, 간섬유화, 간경변증, 간암 등으로 다양하게 나타나며, 만성 간질환과 간암에 의한 사망률은 전체 질병으로 인한 사망원인 중 높은 순위를 차지하고 있다고 보고되어 지고 있다¹⁸⁾. 간은 신체 내 저장 및 해독기능을 담당하는 핵심기관으로 해독과정에서 많은 양의 활성산소가 생성된다¹⁹⁾. 산화적 스트레스에 의한 간 손상으로 염증반응이 생기며, 이 염증반응이 간염을 일으키고, 만성 간염이 지속되어 악화하는 경우 간섬유화, 간경변증, 간암 등으로 진행되기 때문에 산화적 스트레스 감소 효과를 보이는 항염증 관련 연구의 필요성이 중요시 되고 있다¹⁹⁾.

본 연구에 사용되었던 복합물은 구기자, 목천료, 모과, 노근, 오가피, 갈근, 길초근, 산수유, 대추, 인삼 등으로 구성되어 있다. 이 약재 중에서 구기자(枸杞子)는 가지과의 낙엽, 활엽, 관목으로 구기자나무 열매를 구기자라 하며 우리나라 전역에 자생하고 있다. 한방에서는 잎을 구기엽, 열매를 구기자, 뿌리를 지골피라 하며, 아미노산, 비타민 등이 함유되어 있어 정력감퇴, 결막염, 피로회복, 현기증 등에 이용되고 있다. 예로부터 불로장생의 묘약으로 불리워져 왔으며 강장, 강정, 건위에 효과가 있고 허약체질개선, 현기증에도 좋다. 구기자에는 비타민, 루틴, 베타인, 아미노산 등이 들어 있어 강장제로서 효능이 높고, 동맥경화, 고혈압의 예방 등에 효과가 있다. 목천료(木天蓼)는 다래나무(미후리)과에 속한 낙엽 덩굴성 식물인 개다래나무의 과실로, 이에 대한 성분으로는 자당, 점액질, 전분, 단백질, 탄닌, 유기산, 비타민 C, 비타민 A 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있으며, 지금까지 알려진 효과로는 止渴, 解煩熱과 비노기 결석 치료가 있다.

모과(木瓜)는 주로 차나 술을 만들어 먹는 것으로, 소화촉진, 보혈과 조혈작용, 항이노 작용 및 위장과 사신의 근육을 풀어주고, 힘을 갖게 하는 등 다양한 약효를 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 노근(蘆根)은 우리나라에서 많이 자생하는 갈대의 뿌리를 말한다. 노근의 약리작용으로는 이뇨작용, 해열작용, 간 보호작용, 조혈기능 강화작용 등이 있는 것으로 알려져 있다. 오가피(五加皮)는 인삼과 같은 두릅나무과에 속하는 낙엽활엽관목으로, 오갈피라고도 하며 우리나라와 중국, 러시아에서도 생산된다. 동의보감이나 본초강목에 의하면 오가피뿌리, 줄기 및 가지의 껍질 등을 장기복용하

면 몸을 가볍게 한다하여 오래 전부터 사용해 왔다. 갈근(葛根)은 칩부리의 껍질로서 냄새는 없고 약성은 달며 맵고 평하다. 갈근은 땀을 내며, 열을 내려 고열두통을 치료하고 갈증을 멎게 한다. 소화불량, 두통, 빈혈, 이질, 복통, 술독, 감기, 구도와 부인들의 하혈에 쓰이고 소화를 돕는다. 생뿌리를 짓찧어 즙을 내어 마시기도 한다. 칩의 열매는 갈곡이라 하며 설사에 효과가 있고 칩꽃인 갈화는 독특한 단맛이 있어 술독을 풀어주고 장을 튼튼하게 한다. 길초근(吉草根)은 동속근연식물로 줄귀오줌풀, 넓은잎 쥐오줌풀, 팽귄 쥐오줌풀 등이 있으며 모두 약재로 사용된다. 이 약은 특이한 냄새가 있고 맛을 맵고 쓰며 성질은 따뜻하다. 길초근은 정신불안으로 인한 心煩, 不眠, 驚悸, 신경쇠약, 심근염, 산후 심장병, 고산병, 생리불순, 위경련, 관절염, 타박상 등에 사용한다. 약리작용으로 진정작용, 진경작용, 혈압강화, 그람양성균 억제작용, 이뇨작용 등이 보고되었다. 산수유(山茱萸)는 신장 요로계통과 성인병, 부인병 등에 효능이 있고, 특히 성기능 회복에 도움이 되고 땀을 멎게 하며 열을 내리고 음기를 보충해 준다. 소변을 너무 자주보는 빈뇨 현상에도 효과적이다. 대조(大棗)는 갈매나무과에 속하는 활엽교목으로, 약용과 식용을 겸하여 사용된다. 높이가 10 m에 달하며 가지는 미끄럽고 가시가 있다. 인삼(人蔘)은 사포닌 글리코시드인 진세노사이드류, 스테로이드, 비타민 B군, 콜린 등이 함유되어 있다. 강장, 강심, 건위, 보정, 진정, 자양 등의 약으로 사용되고 위장 등의 기능 쇠약에 의한 물질대사 기능의 저하에 사용되며, 병약자의 위 부정체감, 소화불량, 구토, 흥통, 이완성, 설사, 식욕부진 등에도 사용된다¹⁴⁾.

TAA에 의한 간 독성은 세포내 microsomal mixed function oxygenase에 의한 TAA의 생체전환에 기인한다²⁰⁾. TAA의 반응성 대사산물은 세포와 mitochondria막 및 bile canalicular membrane 등을 파괴하며, mitochondria matrix의 파괴는 유리 Ca⁺⁺의 세포질 유입을 증가시킴으로써 세포 호흡을 억제한다⁹⁻¹²⁾. TAA로 유발된 경변 전 단계 간 손상의 지표로 세포막 파괴에 따른 효소들의 혈액내로의 방출이 제시되었다⁹⁾. 본 연구에서도 TAA 투여에 따른 혈액 내 AST 및 ALT의 증가는 간세포 손상을 증명해 주는 결과로 Dwivedi 등²⁰⁾의 결과와 일치하였다. 이와 같은 현상들은 TAA 단회성 투여로 인한 급성 간괴사로 인하여 반영되는 지표로서 TAA 반복투여로 유발되는 진전된 상태의 간 손상에서는 오히려 microsomal mixed function oxygenase 활성이 급격하게 증가되었다²¹⁾. 이는 TAA의 독성이 간세포내 microsomes에 의한 생체전환 후에 나타나는 결과임을 말하며, TAA 반응성 대사산물이 간세포 구성 기대분자에 covalent하게 결합하기 때문으로 보고되고 있다²²⁾. TAA에 의한 독성산물의 영향은 단백질 합성을 억제하며, 본

연구에서도 TAA 투여시 간조직내 단백질량의 감소가 관찰되었다. 본 연구결과 TAA 투여로 증가된 조직내 Ca^{++} 함량은 Ca^{++} 이 비정상적으로 세포질내로 유입됨을 증명해주는 결과로서 간독성 유발요인임을 나타내준다.

Silymarin은 간보호제로 알려진 약물로서 silybin, silycristin 및 silydianin등 flavonoid의 혼합체이며, Silybum marianum의 씨앗으로부터 추출, 분리된 물질이다²³⁾. Silymarin은 동물 및 인체 실험에서 여러 약물로 인한 간손상에 보호효과를 나타내었다. 제시되는 약물기전으로 세포막 안정화로서 이는 silymarin의 radical 소거작용 또는 항산화 작용에 의하여 이루어진다²⁴⁾. 최근에는 silymarin이 세포내 glutathione의 생체 이용성을 증가시킨다고 보고되었다²⁵⁾.

이에 본 연구에서는 간 손상 동물모델에서 복합물의 간 보호효과를 규명하기 위해 TAA로 간 손상을 유발하고 복합물을 경구투여하여 실험동물의 체중변화, 혈액학적 분석 및 조직학적 분석을 관찰하였다.

투여기간 동안, 모든 투여군에서 체중증가가 관찰되었으나 4주차 TAA 투여 및 모든 시험물질 투여군에서 정상대조군 대비 체중이 감소하는 경향이 관찰되었다. 부검 시 간을 적출하여 장기중량을 측정 한 결과, TAA 투여군 및 TAA+양성대조군에서 통계적으로 유의하게 간 손상 유발로 인한 장기중량 증가가 관찰되었으며, 시험물질 투여군의 경우 간 손상 유발군에 비해 감소하는 경향이 관찰되었다. 혈액생화학적 검사 결과, TAA+저농도 복합물 투여군, TAA+고농도 복합물 투여군에서 T-CHO 및 VLDL이 TAA 투여군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 감소하는 경향이 관찰되었다. 조직병리학적 검사결과, 간의 경우 정상대조군에서는 비정상적 조직학적 소견은 관찰되지 않았고, 간 손상 유발군 및 시험물질 투여군에서 간섬유화가 관찰되었으며, 간석회화의 병변 현상은 간 손상 유발군 대비 TAA+고농도 복합물 투여군에서 완화된 경향이 관찰되었다.

이러한 결과들은 구기자 복합물 약침액이 TAA에 의해서 유도된 간손상에 대하여 간세포 증식과 혈액학적 간기능지표들을 호전시킴으로서 보호작용을 나타내는 것을 나타내고 있다. 또한 조직학적 분석에서도 구기자 복합물 약침액이 TAA에 의해서 유도된 간조직 손상에 대하여 회복시키는 효능이 있음을 나타내고 있다. 결론적으로 구기자 복합물 약침액은 TAA로 유발된 간손상모델에서 간 보호효능을 나타낼 수 있을 것으로 생각되며, 향후 구기자 복합물 약침액의 구성성분들을 중심으로 간보호 물질의 확인 및 작용기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 복합물이 TAA로 유발된 간손상 동물모델에서 실험동물의 체중, 혈액학적인 분석 및 조직학적 분석을 통하여 간 보호효과를 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 모든 투여군에서 체중증가가 관찰되었으나 4주차 TAA 투여 및 모든 시험물질 투여군에서 정상대조군 대비 체중이 감소하는 경향이 관찰되었다.
2. 장기중량을 측정 한 결과, TAA 투여군 및 TAA+양성대조군에서 통계적으로 유의하게 간 손상 유발로 인한 장기중량 증가가 관찰되었으며, 시험물질 투여군의 경우 간 손상 유발군에 비해 감소하는 경향이 관찰되었다.
3. 혈액생화학적 검사 결과, TAA+저농도 복합물 투여군, VI : TAA+고농도 복합물 투여군에서 T-CHO 및 VLDL이 TAA 투여군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 감소하는 경향이 관찰되었다.
4. 조직병리학적 검사결과, 간의 경우 정상대조군에서는 비정상적 조직학적 소견은 관찰되지 않았고, 간 손상 유발군 및 시험물질 투여군에서 간섬유화가 관찰되었으며, 간석회화의 병변 현상은 간 손상 유발군 대비 TAA+고농도 복합물 투여군에서 완화된 경향이 관찰되었다.

Acknowledgement

이 논문은 2017년도 세명대학교 교내연구비 지원을 받아 수행되었음.

Funding

None.

Data availability

The authors can provide upon reasonable request.

Conflicts of interest

저자들은 아무런 이해 상충이 없음을 밝힌다.

References

1. Zhao YZ, Lee SH, Huh JW, Ra JC, Sohn DH. Hepatoprotective Effects of *Alnus japonica* Extract on Experimental Liver Injury Models. *Yakhak Hoeji*. 2012 ; 56(2) : 99-107.
2. Lee TJ, Min KJ. The effect of *Allium sativum* L. extract on hepatic function in rats with CCl₄-induced (hepatic) injury. *J Korea Aca Ind Soc*. 2010 ; 11(5) : 1936-42. <https://doi.org/10.5762/KAIS.2010.11.5.1936>
3. Kim JS, Hong HS. Construction of Model for Health-related Quality of Life of Liver Cirrhosis Patients. *J Korean Bio Nur Sci*. 2014 ; 16(4) : 292-99. <https://doi.org/10.7586/jkbns.2014.16.4.292>
4. Seung HS, Woo HJ. Inhibitory Effect of YBR on Hepatic Fibrogenesis. *Korean J Orient Int Med*. 2010 ; 31(2) : 314-30.
5. Kim KJ, Shin MR, Kim SH, Kim SJ, Lee AR, OJK, et al. Protective effect of *Thongyuhwalhyeol-tang* on liver injury in thioacetamide-induced rat. *Korean J Herbology*. 2018 ; 33(1) : 37-46. <https://doi.org/10.6116/kjh.2018.33.1.37>
6. Fitzhugh OG, Nelson AA. Liver tumors in rats fed thiourea or thioacetamide. *Science*. 1948 ; 108(2014) : 626-28.
7. Hunter AL, Hosche MA, Neal RA. Thioacetamide-induced hepatic necrosis. Involvement of the mixed-function oxidase enzyme system. *J Pharmacol Exp. Ther*. 1977 ; 200(2) : 439-48.
8. Satyabhama S, Padmanaban G. Effects of thioacetamide on cytochrome P450 synthesis in rat liver. *Biochem J*. 1984 ; 218(2) : 371-77.
9. Nikolaev V, Kermova M, Naydenova E, Ivanov E, Adjarov D. Biochemical Changes in the rat after chronic thioacetamide intoxication. *Toxicology*. 1998 ; 48(1) : 81-5.
10. Moller A, Dargel R. Structural and functional impairment of mitochondria from rat livers chronically injured by thioacetamide. *Acta Pharmacol Toxicol*. 1984 ; 55(2) : 126-32.
11. Robenek H, Themunn H. Effects of chronic administration of thioacetamide on the structure of bile canaliculi and tight junctions in the rat liver as revealed by freeze-fracturing. *Virchows Arch*. 1979 ; 321(1) : 57-61.
12. Landon EJ, Naukam RJ, Sastry BVR. Effects of calcium channel blocking agents on calcium and centrilobular necrosis in the liver of rats treated with hepatotoxic agents. *Biochem Pharmacol*. 1986 ; 35(4) : 597-600.
13. Gallagher CH, Gupta DN, Judah JD, Rees KR. Biochemical changes in liver in acute thioacetamide intoxication. *J Pathol*. 1956 ; 72(1) : 193-96.
14. Jeong JS, Shin MK. Dictionary of Korean Traditional Medicine, Youngrim-sa, Seoul. : 1990 : 386-88
15. Kim NJ, Youn WG, Hong ND. Pharmacological effect of *Lycium chinese*. *Kor J Pharmacogn*. 1994 ; 25(3) : 264.
16. Kim BW, Roh KS. Study on the activity of GOT and GPT in the hepatotoxic rat treated *Lycium chinese*. *Kor J Biomed Lab Sci*. 2000 ; 6(3) : 187-92.
17. Yoon CG, Jeon TW, Oh MJ, Lee GH, Jeon JH. Effect of the ethanol extract of *Lycium chinese* on the oxygen free radical and alcohol metabolizing enzyme activities in rats. *J Korean Soc Food Sci Nurt*. 2000 ; 29(2) : 268-73.
18. Yang YK, Wang L, Kwon O. Protective effects of *Acanthopanax koreanum* Kakai extract against carbon tetrachloride-induced liver injury in Sprague-Dawley rats. *J Nutr Health*. 2014 ; 47(2) : 106-12. <https://dx.doi.org/10.6116/kjh.2016.31.6.37>
19. Lee JY, Seo BI, Roh SS. Improving effect of *Artemisiae Capillaris* Herba extract in reflux esophagitis rats. *Kor. J. Herbol*. 2016 ; 31(6) : 37-44. <https://dx.doi.org/10.6116/kjh.2016.31.6.37>
20. Dwivedi Y, Rastogi R, Sharma SK, Gang NK, Dhawan BN. *Picroliv* affords protection against thioacetamide-induced hepatic damage in rats. *Planta Med*. 1991 ; 57(1) : 25-28.
21. Zimmerman T, Franke H, Dargel R. Studies on lipid and lipoprotein metabolism in rat liver cirrhosis induced by different regimens of thioacetamide administration. *Exp Pathol*. 1986 ; 30(2) : 109-17.
22. Porter WR, Gudzinowicz MJ, Neal RA. Thioacetamide-induced hepatic necrosis. II. Pharmacokinetics of thioacetamide and thioacetamide-s-oxide in the rat. *J Pharmacol Exp Ther*. 1979 ; 208(3) : 386-91.
23. Wagner H. Antihepatotoxic flavonoids in plant flavonoids in biotechnology and medicine: biochemical, pharmacological and struc-

- ture-activity relations. *Planta Med.* 1992 ; 58(6) : 544-48.
24. Ramellini G, Meldoles J. Liver protection by silymarin: in vitro effect on dissociated rat hepatocytes. *Arzneimittelforschung.* 1976 ; 26(1) : 69-73.
25. Valenzuela A, Guerra R, Garrido A. Silybin dihemisuccinate protects rat erythrocytes against phenylhydrazine induced lipid peroxidation and hemolysis. *Planta Med.* 1987 ; 53(5) : 402-5.