

## Acetaminophen 유도 간 손상에 대한 주적(酒敵)의 보호 효과

김성주, 강형섭<sup>1</sup>, 신재석<sup>2</sup>, 설광화<sup>3</sup>, 허진<sup>4</sup>, 장선일<sup>5</sup>  
전북대학교 의학전문대학 헬스케어사업단 생리학교실, <sup>1</sup>전북대학교 수의과대학 수의약리학교실,  
<sup>2</sup>임실생약영농조합, <sup>3</sup>중국 연변대학교 의과대학 일반외과, <sup>4</sup>원광대학교 한의과대학 방제학교실,  
<sup>5</sup>전주대학교 대체의학대학 대체건강관리학부

### ABSTRACT

## Protective Effect of Joo-Juk on Acetaminophen-induced Liver Damage in Mouse Model

Sung-Zoo Kim, Hyung-Sub Kang<sup>1</sup>, Jae-Suk Shin<sup>2</sup>, Guanghua Xie<sup>3</sup>, Jin Huh<sup>4</sup>, Seon-Il Jang<sup>5</sup>  
Department of Physiology, Center for Healthcare Technology Development, Chonbuk National University  
Medical School, Jeonju,  
<sup>1</sup>Laboratory of Veterinary Pharmacology, College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University,  
<sup>2</sup>Imsil Herbal Medicine Association,  
<sup>3</sup>Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Yanbian University College of Medicine, China,  
<sup>4</sup>Department of Oriental medical prescription, Wonkwang University,  
<sup>5</sup>School of Alternative Medicine & Health Science, College of Alternative Medicine, Jeonju University

Acetaminophen (AP) is widely used as an over-the-counter analgesic and antipyretic drug. AP-induced hepatotoxicity is a common consequence of AP overdose and may lead to acute liver failure. In this study, we investigated the liver damage in mice using single dose (300 mg/kg) of

- 
- 교신저자 : 장선일
  - 전북 전주시 완산구 효자동 3가 1200, 전주대학교 대체의학대학 대체건강관리학부 건물관리 전공
  - Tel : 063-220-3124 Fax : 063-220-2054 E-mail : sonjjang@jj.ac.kr
  - 접수 : 2009/ 11/ 30 1차 수정 : 2009/ 12/ 07 2차 수정 : 2009/ 12/ 15 채택 : 2009/ 12/ 22

AP and the possible protective effects of administration (50-200 mg/kg body weight) of Joo-Juk on acetaminophen-induced liver damage in mice. The alanine aminotransferase (ALT), and aspartate aminotransferase (AST) activities were determined in the plasma of mice. The effect of Joo-Juk on lipid peroxidation product thiobarbituric reacting substances (TBARS) and some antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase, d-aminolevulinic acid dehydratase ( $\sigma$ -ALA-D) activities, and glutathione peroxidase (GPx), were also evaluated in the mouse liver homogenate. AP caused liver damage as evident by statistically significant increased in plasma activities of AST and ALT. There were statistically significant losses in the activities of SOD, catalase,  $\sigma$ -ALA-D, and GPx and an increase in TBARS in the liver of AP-treated group compared with the control group. However, Joo-Juk was able to counteract these effects. These results suggest that Joo-juk can act as hepato-protectant against AP toxicity and is a good candidate for further evaluation as an effective chemotherapeutic agent.

**Key word** : Joo-Juk, Oxidative stress, Hepatotoxicity, Antioxidant, Acetaminophen

## 1. 서론

Acetaminophen (N-acetyl-p-aminophenol, paracetamol, AP)은 전 세계적으로 해열 및 진통에 활용되는 일반의약품이다. 인체에 일반적으로 사용되는 농도의 AP는 비교적 안전하지만, 과량의 AP가 투입되면, 간 괴사(liver necrosis), 신경독소(nephrotoxicity), 간경화(liver cirrhosis)를 유발할 뿐만 아니라 사망에 이르는 약물 부작용이 있는 것으로 잘 알려져 있다<sup>1,2)</sup>. AP의 독성기전은 대사과정에 의해 발생되는 산화적 스트레스가 주원인으로 알려져 있으며<sup>2)</sup>, 간장의 cytochrome P450 효소에 의해 전환되어 발생된 N-acetyl-p-benzoquinoneimine (NAPQI)과 같은 독성 대사산물이 생성되어 glutathione (GSH)의 고갈을 초래함으로써 세포막을 치명적

으로 손상시켜 간장의 괴사를 유도하고 회복할 수 없게 하여 사망에 이르는 것으로 알려졌다<sup>3-5)</sup>.

AP에 의한 간질환 환자는 약 10%에 이르고 있는데, 성인보다는 어린이에게 심각한 독성이 나타나고, 비알콜 섭취 자에 비해서 알콜 섭취 자에게서 그 독성이 심각한 것으로 보고되었다<sup>6)</sup>. 특히 알콜 과다섭취에 의한 간 손상이 있을 경우 AP의 독성은 더욱 심각한 간 질환을 야기할 수 있다<sup>6)</sup>.

한국을 비롯한 동양에서는 전통적으로 알콜이나 간염바이러스에 의한 간 손상을 치료할 때 여러 가지 약용식물을 혼합하여 가운가압 또는 알콜 추출한 생약을 주로 활용해왔다<sup>8,9)</sup>. 주적은 황금(*Scutellaria baicalensis* root, 8%), 민들레(*Taraxacum mongolicum*, 8%), 오리나무(*Alnus japonica*, 16%), 갈근(*Pueraria thunbergiana* root, 8%), 홍삼(Red ginseng, 4%), 진피(*Citrus unshiu* peel, 4%), 백푼(*Atractylodes*

*japonica*, 적당량), 계피(*Cercidiphyllum magnificum* bake, 적당량), 양강(Persimmon peel) 건강(dried ginger), 정향(*Caryophyllus aromaticus*), 엉겅퀴(*Cirsium japonicum* DC. var. *ussuriense*, 적당량), 유근피(*Ulmus davidiana* var. *japonica* bake, 적당량) 등 생약 추출물(혼합추출물 80%)과 맥아, 타우린, 사과농축액, 파인애플 농축액, 과당, 카라멜 색소 등 첨가물 및 안식향산(보존제) 등으로 만들어진 간보호제로 전북대학교헬스케어사업단과 임신생약조합영농법인에서 제조한 상품이다.

따라서 본 연구는 AP 유도 BALB/c 모델 마우스에서 주적의 간 보호 작용을 알아보기 위하여, 지질산화, aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST),  $\alpha$ -aminolevulinic acid dehydratase ( $\alpha$ -ALA-D), superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx) 등의 활성을 조사한 결과 매우 흥미로운 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 시 약

Aminolevulinic acid, dithiothreitol (DTT), DL-dithiothreitol, thiobarbituric acid, mono & dibasic potassium phosphate, acetic acid, ortho-phosphoric acid, trichloroacetic acid, superoxide dismutase, catalase, GPx catalyses, sodium chloride는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), AST & ALT kit는 영동제약(경기도, 한국)으로부터 구입했다. Protein assay kit는 Bio-Rad사로 부터 구입했다. Acetaminophen 과 기타 시약은 reagent grade급으로 Sigma-Aldrich 사 (MO, USA)로부터 구입했다.

#### 2) 약물의 추출

실험에 사용한 주적은 임신생약영농조합으로부터 제공받았으며, 주적 1,500 ml을 동결건조하여 약 50g을 얻고 -20°C에서 보관하면서 사용하였고,

실험에 사용된 환은 임신생약조합에서 제공한 시료를 사용하였다.

#### 3) 실험동물

무균환경에서 사육된 7주령의 암컷 BALB/c계 마우스는 중앙실험동물(주)(서울)로부터 구입하였다. 마우스는 1주일간 스트레스를 해소하기 위해 1주일간 낮과 밤의 주기를 12시간씩 고정하여 사료(중앙실험동물(주))와 멸균 물을 공급하면서 사육한 후 전주대학교 실험동물위원회의 실험 규정에 준하여 실험에 사용하였다.

## 2. 방 법

#### 1) 약물투여

8주된 BALB/c계 마우스는 실험군당 10마리를 수용하여 사망률을 조사에 사용하였고, 나머지 실험에는 6마리씩 나누어 수용하였으며, 음성대조군은 단지 생리식염수만 투여했고, 양성대조군은 37°C 생리식염수에 마우스 kg 당 300 mg의 AP를 용해하고 feeding needle을 이용하여 7일동안 매일 1회 경구투여 하였다. 주적 투여군은 37°C 생리식염수에 마우스 kg 당 300 mg의 AP를 용해하고 feeding needle을 이용하여 1회 경구투여 한 후, 30분 후에 주적을 마우스 kg당 50 mg, 100 mg, 200 mg 의 3개 실험군으로 나누어 7일 동안 하루에 1회씩 경구투여 하였다.

#### 2) 혈 장

혈액은 마지막 약물을 투여하고 다음날 heparin 이 처리된 주사기를 이용하여 심장에서 채혈한 후 4°C, 3,000 rpm으로 원심 분리하고 혈장(plasma)을 얻어 -20°C에 보관하였고, AST와 ALT 활성에 사용하였다.

#### 3) 간 조직 용해물의 준비

채혈 후, 신속히 간 조직을 적출하여 얼음상자에 유지하고, 간조직의 7배가 되는 양의 0.85% NaCl을 주입하여 간 조직을 마쇄한 후, 10,000 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 얻어진 상층액은 단백질을 정량하고 실험에 사용하였다.

## 4) 단백질 정량

단백질 정량은 표준 단백질 우태아 혈청 albumin 을 사용하여 Lowery 등<sup>10)</sup> 방법으로 측정하였다.

## 5) Lipid peroxidation 측정

간 조직 상층 액을 37°C에 1시간 동안 방치한 후, 지질 산화를 측정하였다. Thiobarbituric acid reactive species (TBARS) 산물은 Ohkawa 등<sup>11)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다.

## 6) AST와 ALT 측정

Aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)는 혈장으로부터 영동제약에서 제시한 방법에 준하여 측정하였다.

7)  $\sigma$ -Aminolevulinatase 측정

$\sigma$ -ALA-D 활성의 측정은 porphobilinogen 형성을 측정에 의한 Sassa<sup>12)</sup>의 방법에 준하여 실험하였다. 시료를 37°C에서 1시간 동안 방치한 후, 반응산물은 Ehrlich-porphobilinogen salt에 대한  $6.1 \times 10^4 M^{-1}$  몰라 흡수계수를 가진 555 nm에서 측정하였다.

## 8) Superoxide dismutase 측정

Misra와 Fridovich<sup>13)</sup>의 방법에 따라 간 조직 상층 액을 20배(0.85% NaCl) 희석하여 SOD 활성을 측정하였다. 요약하면, pH 10에서 신속하게 자동 산화되는 핑크색의 산물을 UV spectrophotometer (Beckman Coulter)를 이용하여 480 nm에서 그 흡광도를 측정하였다. 50% 효소를 억제하는 양을 효소의 1 unit로 계산하였고, SOD의 활성은 단백질 g 당 unit로 계산하였다.

## 9) Catalase 측정

Catalase 활성은 Aebi<sup>14)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 요약하면, 간 조직 상층 액 10 ml을 quartz cuvette에 주입하고 인산완충액(pH 7.0)에 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 신속하게 주입하여 반응시켰다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 분해율은 120초 동안 240 nm에서 UV spectrophotometer를 이용하여 측정하였다. Catalase의 활성은 단백질 g 당 unit로 계산하였다.

## 10) Glutathione peroxidase 측정

GPx 활성은 Paglia와 Valentine<sup>15)</sup>의 방법에 따라 cumen hydroperoxide에 의한 GSH의 산화되는 양을 측정하였다. glutathione reductase and NADPH 존재 하에 산화된 GSH는 NADPH에서 NADP<sup>+</sup>로 즉시 전환되기 때문에 340 nm UV spectrophotometer로 감소된 흡광도를 측정하여, 간 조직 상층 액의 GPx 활성을 mM NADPH/mg protein/min으로 계산하였다.

## 11) 통계처리

모든 실험 값은 평균±표준오차(mean ± SD)로 표시했으며, 통계분석은 ANOVA와 Student's t-test로 처리했으며, 유의성 한계는  $p < 0.05$ 로 정하였다.

### III. 결과 및 고찰

인체에 과량의 AP가 투여되면 간 조직이 괴사에 이르면서 파괴된 세포로부터 유리되어 혈청 내 AST와 ALT 증가된다<sup>16-18)</sup>. 일반적으로 인체에 사용되는 AP가 투여되면 간 조직에 큰 손상을 주지 않지만, 일시적으로 과량의 AP가 투여되면 72-96시간에 간 독성이 최대로 나타나 사망할 수 있다. 이러한 특성은 혈액의 응고덩어리가 형성될 때까지 걸리는 시간 즉, prothrombin time (PT) 뿐만 아니라 transaminases와 bilirubin의 농도가 증가하고 간 조직의 괴사가 진행 된다<sup>19)</sup>. 이때 간 독성의 지표로 잘 알려진 AST와 ALT가 증가하고 이는 혈청내로 유입되는데, AP에 의한 간 독성 기전은 P450 cytochrome C에 의존적이라 알려졌다<sup>19)</sup>.

본 연구에서 우리는 AP 투여에 따른 주적이 간 독성 뿐만 아니라 사망에 미치는 영향을 알아보았다. 그 결과 Table 1과 같이 AP만 투여한 양성대조군에서는 3일째 2마리와 4일째 1마리가 사망하였고, 그 이후에는 모두 생존하여 7일 동안 누적 사망률이 30%였다. 마우스 1 kg 당 50 mg의 주적을 투여한 저농도 실험군에서는 1일째 1마리와 4

일째 1마리가 사망하여 7일간 누적 사망률은 20%였고, 마우스 1 kg당 100 mg 주적 투여군과 200 mg 주적 투여군에서는 실험 마우스 모두 생존하였다. 먹이의 공급은 중앙동물실험(서울)에서 제공되는 사료를 사용하였으며, 먹이 섭취량은 정상 대조군에 비해 AP 투여군이 약 20%정도 감소하였으나, 마우스 1 kg 당 100 mg 주적 투여군과 200 mg 주적 투여군에서는 정상대조군과 먹이 섭취량이 비슷하였다. 이와 같이 주적이 AP 유도 사망률을 억제하는 근거를 조사하기 위해서, AP를 투여하고 72시간 후에 혈장의 AST와 ALT를 조사하였다. 아무런 약물이 투여되지 않은 대조군

은 AST와 ALT가 각각  $50\pm 5$  unit/L와  $89\pm 6$  unit/L으로 정상 범위 내에 있었지만, AP가 투여된 양성 대조군은 AST가  $120\pm 11$  unit/L과 ALT가  $189\pm 15$  unit/ml로 현저하게 증가했다( $p<0.001$ ). 이러한 결과는 AP가 간독성을 유발하여 사망을 유도하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 AP를 투여하고 30분 후에 주적을 투여하고 72시간 후의 혈장의 AST와 ALT 실험 결과 농도 의존적으로 현저히 감소되었다( $p<0.05$ ). 이러한 결과는 주적이 AP에 의해 유도되는 간 손상을 보호하는데 효능이 있다는 것을 제시해 주었다.

Table 1. Effects of Joo-Juk on AP-induced hepatotoxicity in mice<sup>a)</sup>

Treatment	Plasma AST (Unit/L)	Plasma ALT (Unit/L)	Mortality (%) <sup>b)</sup>
Control	$50\pm 5$	$89\pm 6$	0
AP	$120\pm 11^c)$	$189\pm 15^c)$	30
50 mg Joo-Juk	$105\pm 10$	$158\pm 19$	20
100 mg	$78\pm 12^d)$	$106\pm 12^d)$	0
200 mg	$52\pm 10^e)$	$92\pm 15^e)$	0

<sup>a)</sup> Control mice received only saline and acetaminophen alone mice received a single dose (300 mg/kg body weight) of acetaminophen dissolved in saline. AP treated mice received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP, and 30 min later they received the different dose of Joo-Juk (50-200 mg/kg body weight). Hepatotoxicity was determined 72 h later by quantifying the plasma AST and ALT. Data represent the mean $\pm$ SE of ten mice.

<sup>b)</sup> Mortality was determined 7 days after AP administration.

<sup>c)</sup>  $p<0.001$  versus negative control group treated with saline alone.

<sup>d)</sup>  $p<0.05$  and <sup>e)</sup>  $p<0.01$  versus control group treated with AP alone

AP가 생체에 투여되면, 이 약물이 대사되면서 활성산소의 생성과 함께 지질 산화가 촉진되어 간독성을 유발할 수 있다<sup>20)</sup>. 그러므로 우리는 AP가 투여된 마우스의 지질산화량을 알아보기 위해서 TBARS량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 1와 같이 아무런 약물이 투여되지 않은 정상 대조군에 비해 AP가 투여된 양성대조군은 MDA가 조직 g 당  $149.5\pm 12.5$  nM로 매우 증가되어 지질산화가 촉진된다는 사실을 확인하였다. 그러나 AP와 주적을 투여한 실험군에서는 농도 의존적으로 감소하였다. 특히 100-200 mg/kg 투여군에서는 현저히 감

소하였다( $p<0.01$ 과  $p<0.001$ ). 이러한 결과는 주적이 AP에 의해 간 조직에 형성된 TBARS 억제에 효능이 있음을 나타내 주었다. AP는 지질산화를 촉진시키는 TBARS를 형성하여 간 조직 내에 축적하는 것으로 알려져있다<sup>21-23)</sup>. 지질산화와 관련되어 있는 산화적 스트레스는 대표적으로 AP에 의해 유도되는 것으로 알려져 있는데, 주적은 AP에 의해 유발되는 지질산화를 억제하여 간 기능을 보호하는 것이라 사료된다. 이러한 주적의 효과는 황금 성분의 일종인 baicalin, baicalein, wogonin<sup>24)</sup> 과 오리목나무<sup>25)</sup>, 민들레<sup>26)</sup>, 갈근<sup>27)</sup> 등 생약에 포

함된 flavonoid계 성분들의 효과라 추정된다.

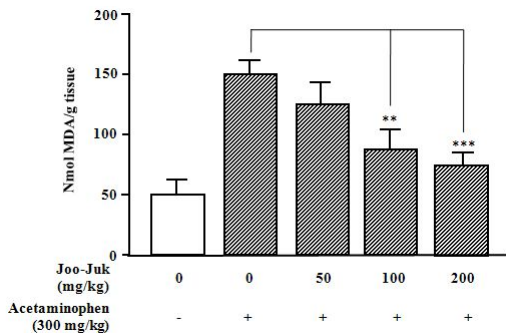


Fig. 1. Effect of Joo-Juk on TBARS formation in the live tissues of AP-treated mice.

Control group received only saliner, AP alone group received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP. Joo-Juk treated groups received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP, 30 min later they received the different dose of Joo-juk (50-200 mg/kg body weight). TBARS levels determined after 7 days. Data represent the mean $\pm$ SE of six mice. \*\* $p$ <0.01 and \*\*\* $p$ <0.001 versus control group treated with AP alone.

$\sigma$ -ALA-D는 산화적 스트레스 산물로 알려진 반응 산소중간물질의 형성을 억제하는 물질로 알려졌다<sup>28</sup>. AP는 산화적 스트레스를 유발하여 간 조직내에  $\sigma$ -ALA-D의 활성을 억제시키는 것으로 보고되었다<sup>29,30</sup>. AP의 반응대사 산물로 알려진 NAPQI는  $\sigma$ -ALA-D의 SH<sup>-</sup> 그룹과 직접 반응할 수 있는 물질로 고농도의 AP은 더욱 많은 NAPQI를 생산해 결국 GSH를 고갈 시키는 것으로 알려졌다<sup>31</sup>. 우리는 AP 투여에 의한  $\sigma$ -ALA-D의 활성과 주적의 효능을 알아 본 결과 Fig. 2과 같이 AP 단독 투여군은 아무런 약물이 투여되지 않은 정상 대조군에 비해 현저히 감소되었으나, 50 mg/kg의 주적 투여군을 제외한, 100 mg/kg과 200 mg/kg 투여군에서는 정상 대조군과 비슷하게 복원되는 결과를 얻었다( $p$ <0.001). 이러한 결과는 주적이 AP에 의해 유발된 간 독성을 해소시키는데 효능이 있다는 것을 시사해 주었다.

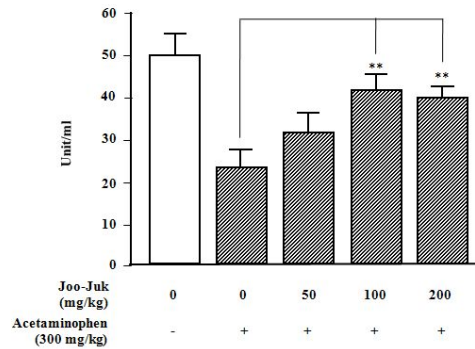


Fig. 2. Effect of Joo-Juk on  $\sigma$ -ALA-D activity in the live tissues of AP-treated mice.

Control group received only saliner, AP alone group received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP. Joo-Juk treated groups received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP, 30 min later they received the different dose of Joo-juk (50-200 mg/kg body weight).  $\sigma$ -ALA-D levels determined after 7 days. Data represent the mean $\pm$ SE of six mice. \*\* $p$ <0.01 versus control group treated with AP alone.

한편 우리는 AP와 주적을 투여한 마우스 생체 내 항산화 작용을 알아보기 위해서 먼저 SOD의 활성을 측정하였다. Fig. 3A와 같이 정상 대조군에 비해 AP 투여는 SOD 활성의 감소를 초래하였으나, 50 mg/kg의 주적 투여군이 아닌 100 mg/kg과 200 mg/kg 투여군에서는 정상 대조군과 비슷하게 복원되는 결과를 얻었다( $p$ <0.001) 이러한 결과는  $\sigma$ -ALA-D의 증가와 유사하게 주적 100-200 mg/kg 투여군에서 SOD가 유의하게 증가되었다( $p$ <0.001). AP 투여에 의한 SOD의 감소는 cytochrome C P450을 경유해 형성된 NAPQI의 축적에 따라 O<sup>-</sup>이온을 감소시키는 NADPH의 억제와 관련되어 있다<sup>32</sup>. 따라서 주적의 투여 효과는 AP 유도 산화작용을 효과적으로 제거할 수 있는 SOD의 활성을 통해서 이루어짐을 알 수 있었다. Catalase는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>을 가수분해하는 생체 내 중요한 항산화 효소로서 작용한다<sup>33</sup>. Fig. 3B와 같이 정상 대조군에 비해 AP 투여군의 간 조직내에서 catalase 활성은 현저히 감소되었으나, 50 mg/kg의 주적 투여군이 아닌

100 mg/kg과 200 mg/kg 투여군에서는 정상 대조군과 비슷하게 복원되는 결과를 얻었다( $p<0.001$ ). 이러한 결과는 주적에 함유된 황금, 민들레, 오리나무, 갈근, 홍삼, 진피, 백푼, 계피, 양강, 건강, 엉성귀, 유근피 등 생약에 포함된 flavonoid 계 항산화 성분뿐만 아니라 간 보호에 작용하는 여러 가지 성분이 복합적으로 작용하는 항산화 효과라 추정된다<sup>22, 24-26</sup>.

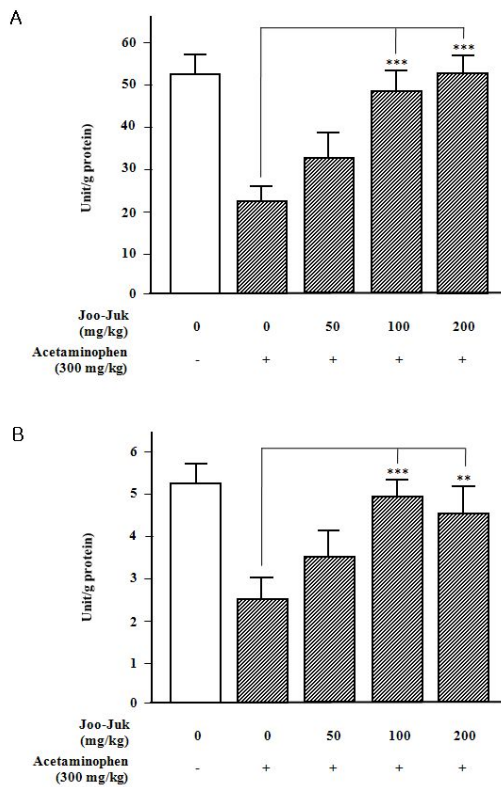


Fig. 3. Effect of Joo-Juk on SOD (A) and catalase (B) activity in the live tissues of AP-treated mice.

Control group received only saliner, AP alone group received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP. Joo-Juk treated groups received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP, 30 min later they received the different dose of Joo-juk (50-200 mg/kg body weight). SOD and catalase levels determined after 7 days. Data represent the mean $\pm$ SE of six mice. \*\* $p<0.01$  and \*\*\* $p<0.001$  versus control group treated with AP alone.

마지막으로 우리는 AP에 의해 손상 받은 간 조직에 주적이 미치는 영향을 알아보기 위하여, GPx의 활성을 조사하였다. 그 결과 Fig. 4와 같이 정상 대조군에 비해 AP 투여는 GPx의 활성을 현저히 억제시켰으나, AP 투여에 의해 감소된 GPx의 활성을 주적 투여군은 농도에 의존적으로 증가시키는 효과가 있었다( $p<0.05$ ,  $p<0.01$ 과  $p<0.001$ ). 이러한 결과는 상기에서 기술한 주적의 항산화 작용이 있다는 것을 시사해 주었다. AP에 의한 간 조직 내의 낮은 농도의 GPx는 지질산화를 촉진한다. 즉, goldthioglucose (GTG)에 의한 GPx의 억제는 간세포에 민감하게 작용하여 AP에 의해 유발된 간독성을 억제하지 못하는 것으로 알려졌다<sup>34</sup>. 약용식물 유래 flavonoid 계열의 물질은 지질산화를 억제하고 GSH의 활성을 증가시킴으로써 AP독성을 억제하는 것으로 알려져 있다<sup>22,34</sup>. 그러므로 우리의 결과는 주적이 GSH를 증가시킴으로써 AP의 독성으로부터 간을 보호할 수 있다는 사실을 제공해주었다.

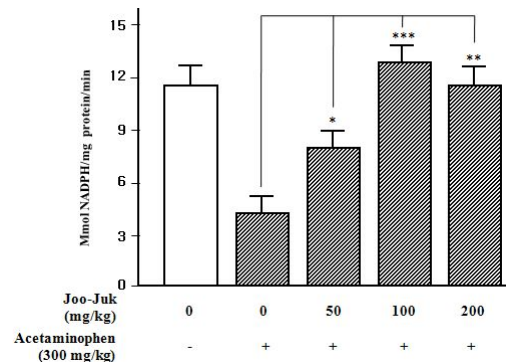


Fig. 4. Effect of Joo-Juk on GPx activity activity in the live tissues of AP-treated mice.

Control group received only saliner, AP alone group received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP. Joo-Juk treated groups received a single dose (300 mg/kg body weight) of AP, 30 min later they received the different dose of Joo-juk (50-200 mg/kg body weight). GPx levels determined after 7 days. Data represent the mean $\pm$ SE of six mice. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , and \*\*\* $p<0.001$  versus control group treated with AP alone.

이상의 결과를 종합해볼 때 주적은 AP에 의해 증가된 AST, ALT와 지질산화를 효과적으로 억제하였으며, 저하된  $\sigma$ -ALA-D, SOD, catalase 및 GPx의 활성을 증가시킴으로써 간 손상을 보호하는 기능이 있음을 알 수 있었다. 따라서 AP과 같은 약물에 의한 간 손상으로부터 주적은 간 기능 보호 작용에 활용할 수 있는 좋은 제품이라 사료된다.

#### IV. 결 론

Acetaminophen (AP)는 전 세계적으로 해열 및 진통에 활용되는 일반의약품이다. AP가 과량 투여되면 급성 간질환을 야기한다. 우리는 이 논문에서 300 mg/kg의 AP를 투여하고 간독성을 유발한 후 주적을 50-200 mg/kg 경구투여하여, AP가 유도하는 간독성에 대한 보호효과를 조사하였다. Alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST)의 활성은 마우스 혈장에서 조사하였고, 지질산화 산물인 thiobarbituric reacting substances (TBARS)와 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), catalase, d-aminolevulinate dehydratase ( $\sigma$ -ALA-D) 등의 활성은 마우스 간 조직에서 측정하였다. AP 투여는 혈장 내 AST와 ALT 및 TBARS의 활성을 유의하게 증가시킨 반면, SOD, catalase,  $\sigma$ -ALA-D와 GPx 등 항산화 작용 효소의 활성은 현저히 감소시켰다. 그러나 주적은 AP 유도에 나타난 간독성에 관여하는 효소 및 분자의 활성을 억제 또는 증가시키는 효능이 있었다. 이러한 결과는 주적의 투여가 AP에 의해 증가된 AST, ALT와 지질산화를 효과적으로 억제하였으며, 저하된  $\sigma$ -ALA-D, SOD, catalase 및 GPx의 활성을 증가시킴으로써 간 손상을 보호하는 기능이 있음을 알 수 있었다. 따라서 AP과 같은 약물에 의한 간 손상으로부터 주적은 간 기능 보호 작용에 활용할 수 있는 좋은 제품이라 사료된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2009년 교육과학기술부(지역거점연구단육성사업/헬스케어기술개발사업단)로부터 지원받아 수행된 연구임.

#### 참고문헌

1. Ray SD, Mumaw VR, Raje RR, Fariss MW. Protection of acetaminophen-induced hepatocellular apoptosis and necrosis by cholesteryl hemisuccinole pretreatment. *J Pharmacol Exp Ther.* 1996;279:1470-83.
2. Webster PA, Roberts DW, Benson RW, Kearns GL. Acetaminophen toxicity in children: diagnostic confirmation using a specific antigenic biomarker. *J Clin Pharmacol.* 1996;36:397-402.
3. Albano E, Rundgren M, Harvison PJ, Nelson SD, Moldeus P. Mechanisms of N-acetyl-p-benzoquinone-imine cytotoxicity. *Mol Pharmacology.* 1985;28:306-11.
4. Kyle ME, Miccadei S, Nakae D, Farber JL. Superoxide dismutase and catalase protect cultured hepatocytes from the cytotoxicity of acetaminophen. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987;149:889-94.
5. Mahadevan SB, McKiernan PJ, Davies P, Kelly DA. Paracetamol induced hepatotoxicity. *Arch Dis Child.* 2006 Jul;91(7):598-603.
6. Prescott LF. Paracetamol, alcohol and the liver. *Br J Clin Pharmacol.* 2000;49(4):291-301.
7. Prescott LF. Paracetamol: past, present, and future. *Am J Ther.* 2000;7(2):143-7.
8. Yook CS. *Colored Medicinal Plants of Korea.* Seoul:Academy Book Publishing Company. 1993:88-91.



9. Namba T. The Encyclopedia of Wakan-Yaku (Traditional Sino-Japanese Medicines) with Color Pictures, Vol. II. Osaka:Hoikusha Publishing Company. 1993:92-5.
10. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951;193:265.
11. Ohkawa H, Ohishi H, Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem. 1979;95:351-8.
12. Sassa S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. Enzyme. 1982;28:133-45.
13. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. J Biol Chem. 1972;247:3170-5.
14. Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, editor. Methods of enzymatic analysis. Weinheim: Verlag Chemie. 197:673-7.
15. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967;70:158-67.
16. Janbaz KH, Saeed SA, Gilani TA. Protective effect of rutin on paracetamol- and CCl<sub>4</sub>-induced hepatotoxicity in rodents. Fitoterapia. 2002;73:557-63.
17. Ali BH, Bashir AK, Rasheed RA. Effect of the traditional medicinal plants *Rhazya stricta*, *Balanitis aegyptiaca* and *Haplophylum tuberculatum* on paracetamol-induced hepatotoxicity in mice. Phytother Res. 2001;15:598-603.
18. Kozer E, Evans S, Barr J, Greenberg R, Soriano I, Bulkowstein M, et al. Glutathione, glutathione-dependent enzymes and antioxidant status in erythrocytes from children treated with high-dose paracetamol. Br J Clin Pharmacol. 2003;55:234-40.
19. Hinson JA, Pohl LR, Monks TJ, Gillele JR, Guengerich FP. 3-Hydroxyacetaminophen. A microsomal metabolites of acetaminophen. Evidence against an epoxide as the reactive metabolite of acetaminophen. Drug Metab Dispos. 1980;8:289-94.
20. Olaleye MT, Rocha BT. Acetaminophen-induced liver damage in mice: effects of some medicinal plants on the oxidative defense system. Exp Toxicol Pathol. 2008;59(5):319-27.
21. Younes M, Siegers CP. The role of Iron in the paracetamol and CCl<sub>4</sub>-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity. Chem Biol Interact. 1985;55:327-34.
22. Katyare SS, Satav JG. Altered kinetic properties of liver mitochondrial membrane - bondenzymes activities following paracetamol hepatotoxicity in rat. J Biosci. 1991;16:71-9.
23. Katikova O. Effect of mexidol on the homeostatis and lipid peroxidation in paracetamol poisoning. Eksp Klim Farmakol. 2002;65:53-6.
24. Jang SI, Kim HJ, Hwang KM, Jekal SJ, Pae HO, Choi BM, Yun YG, Kwon TO, Chung HT, Kim YC. Hepatoprotective effect of baicalin, a major flavone from *Scutellaria radix*, on acetaminophen-induced liver injury in mice. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2003;25:585-94.
25. Kim ST, Kim JD, Ahn SH, Ahn GS, Lee YI, Jeong YS. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Alnus japonica* extracts on acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. Phytother Res. 2004;18(12):971-5.
26. Park JC, Hur JM, Park JG, Kim SC, Park JR, Choi SH, Choi JW. Effects of methanol extract of *Cirsium japonicum var. ussuriense* and its principle, hispidulin-7-O-neohesperidoside on

- hepatic alcohol-metabolizing enzymes and lipid peroxidation in ethanol-treated rats. *Phytother Res.* 2004;18(1):19-24.
27. Bae HS, Kim YS, Cho KH, Lee KS, Kim JJ, Lee HU, Kim DH. Hepatoprotective activity of reduohanxiao-tang (yuldahanso-tang) is related to the inhibition of beta-glucuronidase. *Am J Chin Med.* 2003;31(1):111-7.
  28. Arnaiz SL, Llesuy S, Curtrin JC, Boveris A. Oxidative stress by acute acetaminophen administration in mouse liver. *Free Radical Biol Med.* 1995;19:303.
  29. Soares JCM, Folmer V, Rocha JBT. Influence of dietary selenium supplementation and exercise on thiol-containing enzymes in mice. *Nutrition.* 2003;19:627.
  30. Folmer V, Soares JC, Rocha JBT. Oxidative stress in mice is dependent on the free glucose content of the diet. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002;34:1279.
  31. Bechara EJH. Oxidative stress in acute intermittent porphyria and lead poisoning may be triggered by 5-aminolevulinic acid. *Brazil J Med Biol Res.* 1996;29:841.
  32. Bessems JM, Vermeulen NPE. Paracetamol (Acetaminophen)-induced toxicity: molecular and biochemical mechanism. *Analogues Protective Approaches* 2001.
  33. Rajesh B, Parames CS. The protein fraction of *Phyllanthus niruri* plays a protective role against acetaminophen induced hepatic disorder via its antioxidant properties. *Phytother Res.* 2006;120:595-601.
  34. Adamson GM, Harman AW. A role for the glutathione peroxidase/reductase enzyme system in the protection from paracetamol toxicity in isolated mouse hepatocytes. *Biochem Pharmacol* 1989;38:3323-30.