

마디풀(*Polygonum aviculare* L.)의 전초가 脂質過酸化 및 肝機能에 미치는 영향

李充基 · 金南宰* · 洪南斗* · 權昌鎬
경희대학교 약학대학 · *동서의학연구소

Anti-lipid Peroxidation and Liver Protective Effects of *Polygonum aviculare* L.

Chung Gi Lee, Nam Jae Kim*, Nam Doo Hong* and Chang Ho Kwon
College of Pharmacy and *East-West Medical Research Institute,
Kyung-Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract—*Polygonum aviculare* L. was extracted by methanol and then fractionated systematically with solvents and column chromatographic method in order to isolate ingredients with anti-lipid peroxidation and liver protective effects. Among these fractions, ethylacetate soluble part(MWE) showed the strongest in the anti-lipid peroxidation. Furthermore, the crude subfraction(MWE 4) with Rf value near 0.42, which is separated from MWE by column chromatography using a solvent system, inhibited the lipid peroxidation of rat liver *in vitro*. Moreover, MWE 4 decreased GOT, GPT and TBA value compared with control and suggested high protective effects against hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride in mice. The active compounds in MWE 4 were assumed to be flavonoid glucosides.

Keywords—*Polygonum aviculare* L. · TBA value · anti-lipid peroxidation · liver protective effect · GOT · GPT · malondialdehyde

마디풀(*Polygonum aviculare* L.)은 여귀과(마디풀과, Polygonaceae)에 속하는 일년초로서 줄기는 둥근 기둥 모양이고 가지가 있으며 길이는 약 30 cm이고 직경이 1.5~3.0 mm이다. 결절은 갯빛 또는 풀색 또는 밤색이고 세로간 무늬가 있는 마디가 있다. 꽃은 양성으로 6~7월에 피고 여름철 꽃피기 전에 지상부를 채취하여 건조한 것을 약용으로 사용한다. 전국 각지에서 자생하며 어린 잎은 식용으로도 사용한다.¹⁾

한방문헌²⁾에는 마디풀의 전초를 건조하여 箭蓄이라 하고, 황달, 복통, 구충제, 혈뇨증, 임질, 설사, 이질, 류마티스, 고혈압 및 이뇨제 등으로서 응용되고 있다.

마디풀에 함유된 성분으로는 flavonoid계로서

avicularin, quercetin, myricetin, rhamnetin, kaempferol, isorhamnetin, luteolin, vitexin, isovitexin 등이 보고되어져 있으며, coumarin계로서 scopoletin, umbelliferone 등^{3,4)}이, 휘발성 alkaloid, anthraquinone계 화합물⁵⁾, 정유, 수지, wax, tannin, 수용성 polysaccharide 등이 보고되어 있다.

마디풀에 관한 약물학적 연구로는 Inoguchi 등⁶⁾은 rhatannin, tannin 등의 시료에서 angiotensin converting enzyme에 대한 억제효과가 있음을 보고 하였으며, Panosyan 등⁷⁾은 인간의 혈소판응고 억제활성이 있음을 보고 하였으며, Aluf 등⁸⁾은 血壓降下 효과가 있음을 보고하였다. 또한 Kumazawa 등은 사염화탄소⁹⁾ 및 α -naphthyliso-

thiocyanate (ANIT) 유발 간장해¹⁰⁾에 대하여 마디풀의 메탄올엑스가 강한 억제효과가 있음을 밝힌 바 있다.

따라서, 저자는 마디풀이 우리나라 전역에 자생하고 자원이 풍부한 점을 감안하여 脂質過酸化物形成 抑制活性 물질과 肝臟害 保護物質의 탐색 등 천연약물자원 개발연구의 일환으로 마디풀의 MeOH 엑스를 유기용매로 분획하고 각 용매분획물에 대하여 지질과 산화물형성 억제활성을 지표로 하여 활성이 높은 EtOAc 분획물을 다시 column chromatography를 행하여 6개의 subfraction을 얻어 지질과산화물형성 억제활성이 강한 분획물을 얻어 보고하고자 한다.

實驗方法

실험재료—본 실험에서 사용한 마디풀(*Polygonum aviculare* L.)은 충북 괴산군 칠성면의 한 야산에서 1992년 여름에 채집하여 감정받아 음건, 세절할 것을 사용하였다.

실험기기 및 시약—본 실험에 사용한 기기로는 원심분리기[한일원심기(주), 한국], spectrophotometer(UV-160A, Shimadzu), homogenizer(Nihonseiki Kaisha LTD) 등이며, 사용한 시약은 GOT·GPT 측정용 kit 시약(아산제약주식회사, 한국), silymarin(국전약품), sodium ascorbate, uridine(Sigma Co.), sodium thiobarbiturate(Sigma Co.), sodium dodecyl sulfate(Sigma Co), pre-coated TLC plate(silica gel 60 F₂₅₄, Merck Co.), 기타 분리 및 분석용시약은 1급시약을 사용하였다.

실험동물—본 실험에 사용한 실험동물로는 (주)중앙동물의 ICR계 체중 18~23g의 웅성 생쥐와 Sprague-Dawley계 체중 180~220g의 웅성 흰쥐를 사용하였으며 사료로는 삼양유지(주)의 고형사료로 사육하였고 실험실에서 2주간 순응시킨 후에 사용하였다. 실험은 24±2°C, 습도는 50±10%의 실험실에서 행하였다.

추출 및 분획—마디풀 2kg을 methanol 15l로 2시간씩 환류시키면서 3회 가열추출하여 온시에 여과한 여액을 감압농축하여 흑갈색의 점조성의 추출물(SM) 107.5g을 얻었다. 이 MeOH 엑스

(SM)를 10% MeOH 수용액에 현탁시키고 여과하여 가용부(MW)와 불용부(MIW)로 나누었다. 불가용부(MW)를 *n*-hexane으로 수회 반복추출하고 추출액을 수세, 무수망초로 탈수시킨 후에 용매를 유거하여 *n*-hexane 추출물(MWH) 3.4g을 얻었다. 계속하여 *n*-hexane으로 추출한 나머지 물층을 chloroform, ethylacetate 및 *n*-butanol로 순차적으로 추출하고 상법에 따라 용매를 유거하여 chloroform 추출물(MWC) 4.8g, ethylacetate 추출물(MWE) 3.8g, *n*-butanol 추출물(MWE) 4.3g과 잔류하는 수층엑스(MWX) 15.4g을 각각 얻었다.

Ethylacetate 추출물의 subfraction을 얻기 위해 ethylacetate 추출물(MWE)을 상법에 따라 흡착제를 silica gel, 전개용매를 CHCl₃-MeOH-H₂O (90:20:1)로 하여 column chromatography를 행하여 6개의 subfraction을 얻었다(Scheme 1).

藥物活性 實驗方法

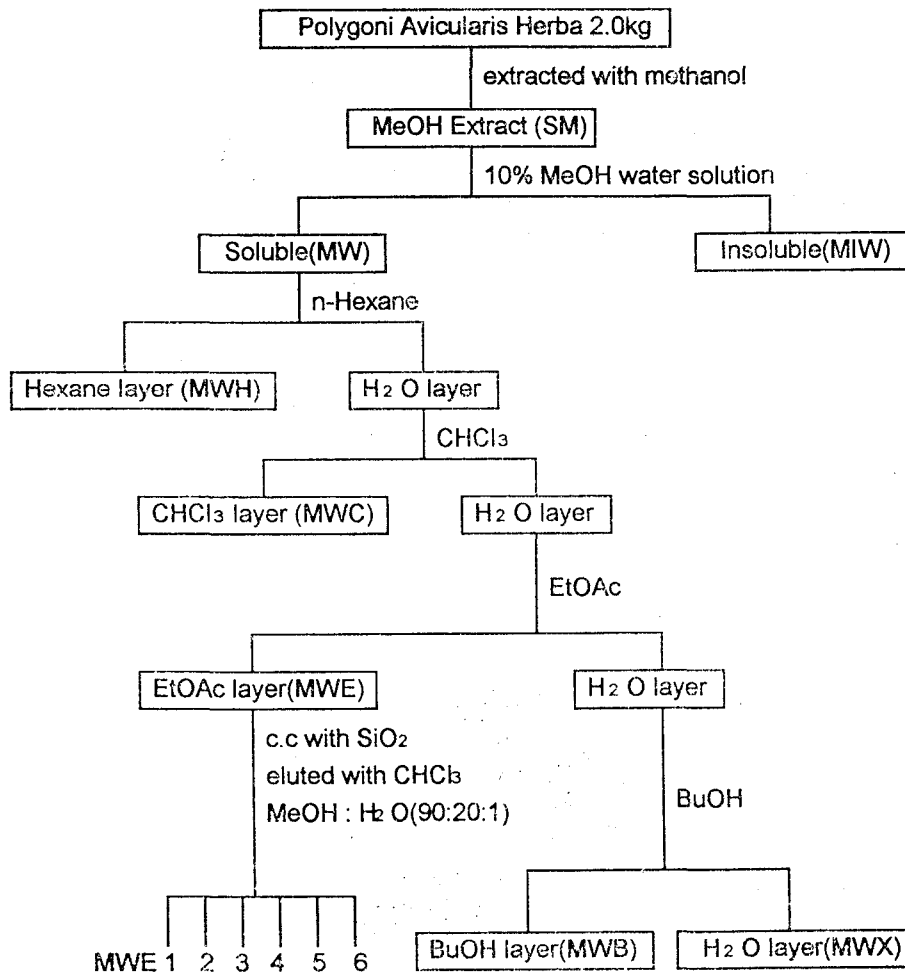
1) *In vitro*계에서의 과산화지질 형성 억제활성실험

(1) 흰쥐의 간균질화물의 조제

흰쥐를 ether로 마취시키고 복부를 절개하여 간문맥에 polyethylene tube를 삽입하여 4°C로 냉방시킨 0.9% saline으로 세척한 후 간을 적출하여 즉시 칭량하고 10%가 되도록 4°C의 phosphate buffer solution(pH 7.4)을 가하여 homogenizer로 10분간 균질화한 후 4°C에서 70×g로 5분간 원심분리하여 간균질화물을 얻어 실험에 사용하였다.

(2) Thiobarbiturate(TBA) reacting substance의 측정

Uchiyama 및 Mihara법¹¹⁾에 약간의 수정을 가했다. 즉, 필요로 하는 농도로 희석한 편축의 MeOH 엑스(MW)와 그 분획물(MIW, MWH, MWC, MWE, MWB 및 MWX) 및 ethylacetate 분획물(MWE)의 subfraction(MWE 1~MWE 6)을 각각 시험관에 200 μl씩 취하고 1% phosphate buffer 용액 3ml와 흰쥐의 간균질화물 0.5ml을 가한 다음 37.0±1°C에서 30분간 incubation 했다. 상온으로 식힌 후 0.6% thiobarbiturate (TBA) 수용액 1ml을 가하고 100°C수욕에서 45분간 가열하여 발색시켰다. 흐르는 물에 시험관



Scheme I. Procedure of systematic fractions of methanol extract of Polygoni Avicularis Herba

을 10분간 방치하여 냉각시킨 후 *n*-butanol 4 ml 을 가하고 진탕, 혼합하여 1800×g(4°C)에서 10 분간 원심분리하였다. *n*-Butanol 층을 취하여 535 nm에서 흡광도(A₅₃₅)를 측정하였다. 대조약 물로 sodium ascorbate를 사용하여 지질과산화 형성억제활성을 아래 식으로 부터 산출하여 저해 활성을 비교관찰 하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

Sample O.D.=시료를 가한 시험액의 흡광도
Control O.D.=시료대신 증류수를 가한 시험 액의 흡광도

2) *In vivo*에서 지질과산화물 형성 및 간장애 에 미치는 영향

(1) 검액의 조제

Scheme I에 따라 얻은 각 분획과 ethylacetate 추출물(MWE)의 subfraction MWE 4를 각각 적 당량 취하여 증류수에 용해 또는 현탁시켜 투여 용적이 1.0 ml/100 g이 되게 조제하여 사용하였 으며, 대조약물로는 silymarin 50 mg/kg, uridine 1.2 g/kg을 사용하였다.

(2) 간독성의 유발 및 검액의 투여

가. 사염화탄소 간독성의 유발

생쥐 1군을 5마리로 하여 미리 24시간 절식시 키고 olive oil에 용해시킨 25% CCl₄를 8 ml/kg (CCl₄로서 2 ml/kg)씩 경구투여하였다. 30분 후 에 검액을 각각 경구투여 하고 따로 검액 대신 0.9% saline을 투여하여 대조군으로 하였고, CCl₄

및 검액을 투여하지 않고 olive oil 만을 경구투여하여 정상군으로 하였다. 검액투여 24시간 후에 ether로 가볍게 마취한 후에 심장채혈하여 상법에 따라 혈청을 분리하였고 혈청분리 후에 생쥐를 치사시키고 간과 뇌를 적출하여 시료장기로 하였다. 대조약물로는 silymarin 50 mg/kg을 경구투여 하여 비교관찰 하였다.

나. D-Galactosamine 간독성의 유발

24시간 절식시킨 생쥐 1군을 5마리로 하여 500 mg/kg의 D-galactosamine을 복강내 투여하고 30분후에 검액을 경구투여 하였다. 따로 검액 대신 0.9% saline을 투여하여 대조군으로 하였고, D-galactosamine 및 검액을 투여하지 않고 saline만 투여하여 정상군으로 하였다. 검액투여 24시간 후에 ether로 가볍게 마취한 후에 심장채혈하여 상법에 따라 혈청을 분리하였고 혈청분리 후에 경추탈골하여 생쥐를 치사시키고 간과 뇌를 적출하여 시료장기로 하였다. 대조약물로는 silymarin 50 mg/kg 또는 uridine 1.2 g/kg을 경구투여하여 비교관찰 하였다.

다. Transaminase(GOT & GPT)활성의 측정

GOT 및 GPT의 활성측정은 Reitman 및 Frankel의 방법¹²⁾에 따라 kit시약을 사용하여 측정하였다. 즉, GOT 또는 GPT 기질을 1 ml씩 시험관에 넣고 37°C 수욕상에서 5분간 가온한 뒤 증류수로 10배 희석된 혈청 0.2 ml씩을 시험관에 가한 후 37°C 수욕상에서 GOT의 경우 60분, GPT의 경우 30분간 반응시킨 다음 발색시액 2,4-dinitrophenylhydrazine을 1.0 ml씩 가하고 실온에서 20분간 방치한 다음 0.4N-NaOH시액 10 ml을 넣어 반응을 중지시켰다. 반응중지 30분후에 505 nm에서 증류수를 맹검으로 하여 표준액, 검체 및 대조군의 흡광도를 측정하였다. 여기서 얻어진 흡광도를 표준액의 검량곡선을 이용하여 효소의 활성단위로 환산하였다.

라. 간과 뇌의 적출 및 균질화

상기 가와 나에서 decapitation된 생쥐를 ether 마취하에서 복부를 절개하여 간을 적출하고, 또 두개골을 절단하여 뇌를 각각 적출했다. 1군당 5마리로 부터 적출한 장기를 합하여 빙냉시킨 0.9% saline으로 수 회 세척한 후 신속히 칭량하고, 상기 1)의 흰쥐의 간균질화물의 조제와

동일한 방법으로 처리하여 각각 간 및 뇌의 균질화물을 얻었다.

마. Thiobarbiturate reacting substance(TBAR-S or MDA)의 측정

뇌와 간의 지질 과산화물의 측정은 Masugi 방법¹³⁾을 변형하여 측정했다. 즉, 간 및 뇌의 균질화물 0.5 ml에 10% sodium dodecyl sulfate (SDS) 용액 0.4 ml을 가하고 37°C에서 30분간 incubation 시켰다. 이 혼합물에 0.1N HCl 2 ml와 1% TBA 용액을 가하고 100°C 탕욕에 넣어 50분간 발색시켰다. 흐르는 물에 10분간 방치하여 냉각시킨 후 5 ml n-butanol을 가하고 진탕 혼합하여 TBA색소를 추출하고 상기 (2)의 TBA-RS 측정법과 같은 방법으로 흡광도(A₅₃₅)를 측정했다. 간 및 뇌에서의 지질과산화량은 TBA value(A₅₃₅/gram wet weight of liver or brain)로 계산했다.

(3) 통계처리

본 실험에서의 결과치의 유의성 검증은 Student's *t*-test법에 준하여 처리하였다.

實驗結果

1. 편측의 MeOH엑스의 지질과산화물 형성 억제효과

1) *In vitro*계에서의 지질과산화물 형성 억제효과

흰쥐 간균질화물에 대한 지질과산화물 형성 억제활성을 검토한 결과를 Table I에 제시하였다. 검액 MeOH엑스(SM), 10% MeOH용액 가용부(MW) 및 불용부(MIW)를 각각 25, 50, 75 mg/ml의 농도에서 지질과산화물형성 억제활성에 대하여 SM은 31.4% 및 36.5%의 저해활성을 보였으며, MW는 39.5%와 37.9%의 억제효과를 나타내었으나, 잔사인 MIW은 별다른 영향을 주지 못하였다.

2) *In vivo*계에서의 간장해 억제효과

(1) 사염화탄소로 유발된 간장해 생쥐에 대한 억제효과

사염화탄소를 경구투여하여 유발된 간장해 활성의 지표로 혈청의 transaminase효소활성도를 측정하였다. 사염화탄소만을 투여한 대조군의

Table I. Effects of MeOH extract of *Polygoni Avicularis Herba* and its fractions on TBA-RS formation in rat liver homogenate *in vitro*

Samples	Conc. (mg/ml)	Absorbance (535 nm)	Inhibition (%)
Control	—	0.433	—
SM	25	0.428	1.2
	50	0.297	31.4
	75	0.275	36.5
MW	50	0.262	39.5
	75	0.269	37.9
MIW	50	0.412	4.8
	75	0.439	—
Ascorbate	50	0.145	66.5

Absorbance is the mean value measured 3 times. The control(H₂O) O.D. value at 535 nm is 0.433.

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

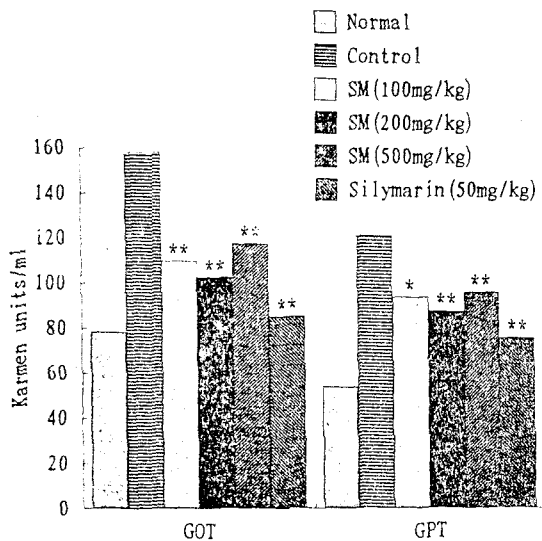


Fig. 1. Effects of MeOH extract of *Polygoni Avicularis Herba* on carbon tetrachloride induced liver injury in mice
 Normal: CCl₄-untreated group, Control: CCl₄-treated group (CCl₄ 2 mg/kg, p.o.), SM: CCl₄+SM treated group
 *: Statistically significant compared with control group.
 (*: p<0.05 and **: 0.01)

GOT 및 GPT활성은 사염화탄소를 처치하지 않은 정상군의 효소활성도에 비하여 각각 유의한

증가를 보여 주었다. 검액 SM 100 mg/kg, 200 mg/kg 및 500 mg/kg 경구투여군에서 GOT활성도는 p<0.01의 유의한 억제를 나타내었고 GPT활성은 p<0.01내지는 p<0.05의 유의한 억제를 보여 주었다. 반면에 검액의 고농도 500 mg/kg 투여군은 저농도 투여군보다 억제활성이 다소 감소됨을 알 수 있었다. 대조약물 silymarin 50 mg/kg투여군에서도 p<0.01의 유의한 GOT 및 GPT 억제활성이 인정되었다(Fig. 1).

(2) D-Galactosamine으로 유발된 간장해 생쥐에 대한 억제효과

D-Galactosamine을 투여하여 유발된 간장해 생쥐에 대한 검액 MeOH엑스(SM)의 효과를 Fig. 2에 제시하였다. D-Galactosamine만을 투여한 대조군의 GOT 및 GPT효소활성도는 정상군에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 보여 주었다. 반면에 검액 SM 1000 mg/kg 경구투여군에서는 각각의 효소활성도를 p<0.05유하게 억

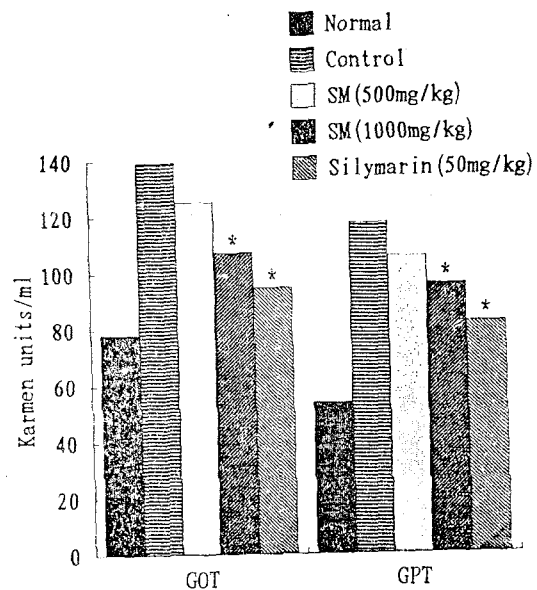


Fig. 2. Effects of MeOH extract of *Polygoni Avicularis Herba* on D-galactosamine induced liver injury in mice
 Normal: D-galactosamine untreated group, Control: D-galactosamine treated group (500 mg/kg, i.p.), SM: D-galactosamine+SM treated group
 *: Statistically significant compared with control group.
 (*: p<0.05 and **: p<0.01)

제시킴을 알 수 있었고 저농도 500 mg/kg 투여군에서는 억제하는 경향을 보이나 유의성은 인정되지 않았다. 대조약물로 사용한 silymarin 50 mg/kg 투여군에서도 $p < 0.05$ 의 유의한 GOT 및 GPT 상승 억제효과가 관찰되었다(Fig. 1).

2. MeOH 및 EtOAc분획물 subfraction의 지질과산화물 형성 억제효과

1) *In vitro* 계에서 용매분획물의 과산화지질 형성 억제효과

MeOH가용부(MW)에서 지질과산화물 형성억제활성을 나타내어 이를 유기용매의 극성에 따라 상법으로 분획한 분획물에 대하여 지질과산화물형성 억제활성을 검토한 결과를 Table II에 제시하였다. *n*-Hexane(MWH) 및 chloroform 분획물(MWC)은 별다른 영향을 주지 못하였으며 EtOAc분획물(MWE) 및 *n*-butanol분획물(MWB)은 50 mg/ml의 농도에서 각각 32.1% 및 29.1%를 나타내었고 75 mg/ml의 농도에서 각각 37.0%와 31.2%의 양호한 억제활성을 보여 주었다. 반면에 물가용부(MWX)는 매우 약한 활성을 보였다.

2) *In vitro* 계에서 EtOAc분획물 subfraction

Table II. Effects of systematic fractions of MeOH extract of *Polygoni Avicularis Herba* on TBA-RS formation of rat liver homogenate *in vitro*

Samples	Conc. (mg/ml)	Absorbance (535 nm)	Inhibition (%)
MWH	50	0.583	—
	75	0.570	—
MWC	50	0.624	—
	75	0.621	—
MWE	50	0.294	32.1
	75	0.273	37.0
MWB	50	0.307	29.1
	75	0.298	31.2
MWX	50	0.419	3.2
	75	0.387	10.6
Ascorbate	50	0.145	66.5

Absorbance is the mean value measured 3 times. The control(H₂O) O.D. value at 535 nm is 0.433.

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

의 지질과산화물 형성억제효과

MeOH엑스의 용매에 의한 분획물중에서 EtOAc 분획물이 *in vitro*계 실험에서 지질과산화물형성 억제활성을 비교적 강하게 나타냄이 인정되어 이를 혼합용매 CHCl₃-MeOH-H₂O=90:20:1로 silica gel을 이용한 column chromatography를 행하여 6개의 subfraction(MWE 1~MWE 6)을 얻었다.

이 분획물들이 지질과산화물 형성억제활성을 *in vitro* 계에서 측정할 바를 Table III에 나타내었다. 검액 MWE 4 subfraction은 35 mg/ml의 농도에서 34.1%의 우수한 지질과산화 형성억제효과를 보였고 MWE 3 subfraction은 45.0 mg/ml에서 14.6%의 억제활성을 보여 주었다. 대조약물로 사용한 sodium ascorbate 50 mg/ml의 농도에서는 44.1%의 억제율을 보였다.

3) MWE 4의 *in vivo* 계에서의 과산화지질형성 및 간장해 억제효과

(1) 사염화탄소 간장해 유발 생쥐에 대한 효과
혈청 transaminase 활성에 대한 효과

사염화탄소에 의해 유발된 간장해 생쥐에 있어서 MWE 4가 혈청중 transaminase(GOT and GPT)활성에 미치는 효과를 Fig. 3에 나타내었다. GOT 및 GPT 활성은 사염화탄소만을 투여한 대조군은 정상군에 비하여 $p < 0.01$ 의 유의성이 있는 상승을 보여 주었으며 검액 MWE 4 100 mg/kg과 200 mg/kg 각각 경구투여군에서

Table III. Effects of subfractions of MWE of *Polygoni Avicularis Herba* on TBA-RS formation

Samples	Concentration (mg/ml)	Absorbance at 535 nm	Inhibition (%)
MWE 1	73	0.417	8.9
MWE 2	46	0.475	—
MWE 3	45	0.391	14.6
MWE 4	35	0.302	34.1
MWE 5	45	0.425	7.2
MWE 6	63	0.450	1.7
Ascorbate	50	0.256	44.1

Absorbance is the mean value measured more than 3 times.

The control(H₂O) O.D. value at 535 nm is 0.458.

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

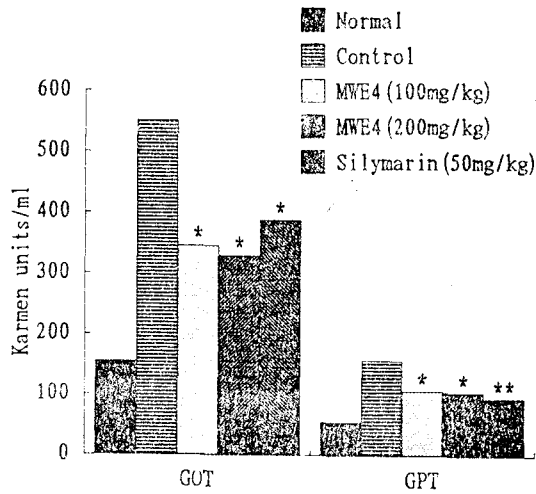


Fig. 3. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on serum transaminase activities in carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in mice

Normal: CCl₄: CCl₄-untreated group, Control: CCl₄-treated group(CCl₄ 2mg/kg, p.o.), MWE 4: CCl₄+MWE 4 treated group.

*: Statistically significant compared with control group.

(*: p<0.5 and **: p<0.01)

p<0.05의 유의성이 있는 상승억제효과를 보여 주었으며 그 효과는 검액의 농도증가에 따라 증대됨을 알 수 있었다. 대조약물 silymarin 50 mg/kg 경구투여군에서도 역시 p<0.05의 유의성이 있는 GOT 및 GPT 활성상승 억제효과를 관찰할 수 있었다.

나. 간 및 뇌조직의 과산화지질에 미치는 영향

사염화탄소로 유발된 간장해 생쥐의 간조직화물의 대조군은 사염화탄소 비처리정상군에 비해 3배가량 TBA value의 증가를 보였으며, MWE 4의 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 대해 각각 41.6%, 66.0%의 저해효과를 보였고 대조약물 silymarin은 68.4%의 저해효과를 나타내었다(Table IV). 뇌조직 조직화물의 경우 대조군은 정상군에 비해 TBA value에서 38.6%의 증가를 보였으며, MWE 4의 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서 각각 54.1%, 40.0%의 저해효과를 보였고 대조약물로서 경구투여한 silymarin은 25.2%의 저해효과를 나타냈다(Table V).

(2) D-Galactosamine 간장해 유발 생쥐에 대한 효과

가. 혈청 transaminase 활성에 대한 효과

D-Galactosamine에 의해 유발된 간장해 생쥐의 혈청중 transaminase(GOT & GPT)활성도에 대한 검액의 효과를 Fig. 4에 제시하였다. D-Galactosamine만을 투여한 대조군의 GOT와 GPT 효소활성도는 정상군에 비하여 현저한 상승을 나타낼을 알 수 있었다. 검액 MWE 4 100 mg/kg 과 200 mg/kg 경구투여군은 각각 대조군에 비하여 억제하는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 대조약물로 사용한 uridine 1.2 g/kg 경구투여군에서는 각각 p<0.05와 p<0.01의 유의성이 있는 GOT 및 GPT활성 상승억제효과가 인정되었다.

나. 간 및 뇌조직 과산화지질에 미치는 영향

Table IV. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on the lipid peroxidation in liver of carbon tetrachloride treated mice

Sample	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Absorbance at 535 nm	TBA value	Inhibition (%)
Normal	—	5	0.148	2.96	—
Control	—	5	0.421	8.42	—
MWE 4	100	5	0.246	4.92	41.6
	200	5	0.143	2.86	66.0
Silymarin	50	5	0.133	2.66	68.4

Normal: CCl₄-untreated group, Control: CCl₄-treated group(2 ml/kg, p.o.).

TBA value; A₅₃₅/gram wet weight of liver.

Inhibition(%) = $\frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$

Table V. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on the lipid peroxidation in brain of carbon tetrachloride treated mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Absorbance at 535 nm	TBA value	Inhibition (%)
Normal	—	5	0.272	5.44	—
Control	—	5	0.377	7.54	—
MWE 4	100	5	0.173	3.46	54.1
	200	5	0.226	4.52	40.0
Silymarin	50	5	0.282	5.64	25.2

Normal: CCl₄-untreated group, Control: CCl₄-treated group(2 ml/kg, p.o.).

TBA value; A₅₃₅/wet weight of brain(g).

Inhibition(%) = $\frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$

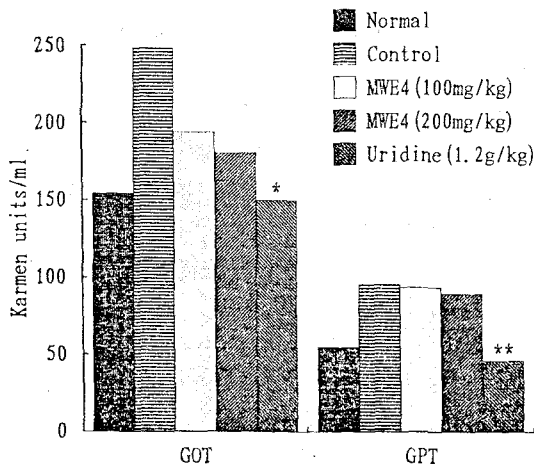


Fig. 4. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on serum transaminase activities in D-galactosamine induced hepatotoxicity in mice

Normal: D-galactosamine-untreated group, Control: D-galactosamine-treated group(500 mg/kg, i.p.), MWE 4: CCl₄+MWE4 treated group.

*: Statistically significant compared with control group.

(*: p<0.05 and **: p<0.01)

간균질화물에서 대조군은 정상군에 비해 1.8 배 가량 TBA value의 증가를 보였으며 MWE 4의 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 각각 33.0%, 19.9%의 저해활성도를 보였고 고농도 투여군에서 억제효과가 더 낮음을 보여 주었다. 대조약물 uridine의 경우 59.6%의 저해활성을 보여 주었다(Table VI). 또한, 뇌조직 균질화물의 경우는 D-galactosamine 투여에

의해 TBA value에서 거의 변화를 보이지 않았으나 대조약물로 사용한 uridine투여군은 22.1%의 저해활성을 보여 주었다(Table VII).

考 察

肝機能改善을 보이는 약물에 대한 검색방법¹⁴⁾에는 *in vitro* assay와 *in vivo* assay가 있으며 *in vivo* 실험은 많은 동물이 소요되고 실험결과 의 편차가 크며 재현성이 불량하므로 일차적으로 *in vitro* 분석법을 이용하는 경우가 많다. 대표적인 *in vitro* 분석법으로는 생체조절물질인 nitric oxide를 분비하는 endothelial cell이나 생리 활성물질의 90%이상을 대사시키는 주요 장기인 간세포를 분리 배양하여 사염화탄소나 D-galactosamine 등을 포함하는 배지로 갈아주어 세포독성을 유발시키고 동시에 생약시료를 가한 뒤 24시간 배양한 후 세포수, DNA함량 또는 DNA 생합성률과 같은 세포의 증식능 및 생존율을 측정하는 방법¹⁵⁻¹⁷⁾과 malondialdehyde(MDA) 함량, NO유리능과 같은 세포의 기능을 측정하는 방법¹⁸⁻¹⁹⁾이 있다. 또한, 흰쥐의 간균질화물의 MDA의 형성에 미치는 생약시료의 영향을 검색하는 TBA법도 많이 이용되고 있다. *In vivo* 분석법으로는 실험동물에 사염화탄소, D-galactosamine, thioacetamide, α-naphthylisothiocyanate (ANIT), chloroform, ethanol, ethionine, aflatoxin 등을 적용시켜 간장해를 유발시키고 생약시료를 전 또는 후투여한 후 GOT, GPT, LDH 등

Table VI. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on the lipid peroxidation in liver of D-galactosamine treated mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Absorbance at 535nm	TBA value	Inhibition (%)
Normal	—	5	0.148	2.96	—
Control	—	5	0.267	5.34	—
MWE 4	100	5	0.179	3.58	33.0
	200	5	0.214	4.28	19.9
Uridine	1,200	5	0.108	2.16	59.6

Normal: D-galactosamine untreated group, Control: D-galactosamine treated group(500 mg/kg, i.p.).
TBA value; A_{535} /gram wet weight of liver.

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

Table VII. Effects of the subfraction(MWE 4) of Polygoni Avicularis Herba on lipid peroxidation in brain of D-galactosamine treated mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of animals	Absorbance at 535 nm	TBA value	Inhibition (%)
Normal	—	5	0.272	5.44	—
Control	—	5	0.276	5.52	—
MWE 4	100	5	0.271	5.42	1.8
	200	5	0.315	6.30	(—)
Uridine	1,200	5	0.215	4.30	22.1

Normal: D-galactosamine untreated group, Control: D-galactosamine treated group (500 mg/kg, i.p.).
TBA value; A_{535} /gram wet weight of brain.

$$\text{Inhibition(\%)} = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

의 혈액생화학적 parameter 들을 측정^{20,21)}하거나 혈청중의 MDA를 측정하는 방법²²⁻²⁴⁾이 있으며 이들 검색 방법등을 통해 지금까지 개발된 약물들로는 큰영정퀴놀의 중자로 부터 개발된 silymarin^{25,26)}을 포함하여 오미자의 schizandrin^{26,27)} 은행잎으로부터 ginkgo flavonoid²⁸⁾, 구름버섯으로부터의 면역조절제인 다당체²⁹⁾, 뽕나무고목의 자생버섯인 桑黃으로부터 meshima³⁰⁾ 등이 있다.

저자는 마디풀이 예로부터 민간에서 황달 등 간질환 개선에 널리 이용되어 왔고 우리나라 전역에 자생하며 자원이 풍부한 점을 감안하여 지질과산화물 형성 억제활성을 지표로 간장해 보호물질의 탐색을 시도했다. 본 실험에서는 *in vitro* assay로서 TBA법과 *in vivo* assay로서 사염화탄소 및 D-galactosamine으로 간독성을 유발시킨 ICR계 mice에 편측 및 그 용매분획물들을 투여한 후 혈청중의 GOT, GPT 활성도를 측정

하고 간과 뇌조직을 추출하여 균질화한 후 TBA value를 측정했다.

그 결과 편측의 메탄올추출물인 SM과 SM의 10% MeOH 수용액 가용부인 MW는 50 mg/ml의 농도에서 각각 31.4%, 39.5%의 높은 저해활성을 나타냈다. 또한 MW의 각 용매분획물 중 EtOAc 가용부인 MWE와 *n*-butanol 가용부인 MWB의 75 mg/ml의 농도에서 각각 37.5% 및 31.2%의 높은 저해활성을 보여주어 MW의 저해활성이 EtOAc 및 *n*-butanol 가용분획에 기인함을 알 수 있었다. 한편, EtOAc(MWE)을 CHCl₃-MeOH-H₂O=90:20:1의 혼합용액으로 column chromatography하여 Rf치에 따라 얻은 MWE 1~MWE 6 중에서 MWE 4(Rf value=0.42)가 35 mg/ml의 농도에서 34.1%로 가장 높은 저해율을 나타냈으며 MWE 3 14.6%, MWE 5 7.2%의 저해활성을 나타냈다.

사염화탄소로 유발시킨 간장애에 대해서는 SM이 각각 100 mg/kg, 500 mg/kg로 5일간 경구투여했을 때 혈중 GOT 및 GPT활성도에 있어 모두 $p < 0.01$ 의 유의성 있는 감소를 나타내었고, EtOAc 분획중 *in vitro* 계에서 흰쥐 간균질화물의 MDA 형성에 높은 저해활성을 보인 MWE 4는 GOT 및 GPT값에서 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여군 모두 $p < 0.05$ 의 유의성 있는 감소를 보였다.

D-Galactosamine으로 유발시킨 간장애에 대해서는 SM을 각각 500 mg/kg, 1,000 mg/kg로 5일간 경구투여한 바 1,000 mg/kg의 고농도 투여군에서 $p < 0.01$ 의 유의성 있는 감소를 나타내었고, MWE 4는 GOT 및 GPT 값에서 100 mg/kg, 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 비해 각각 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 인정되지 않았다.

한편 사염화탄소 및 D-galactosamine으로 간독성을 유발한 후 MWE 4를 1회 경구 투여한 생쥐의 간 및 뇌를 적출하여 TBA법으로 MDA를 측정한 바 사염화탄소로 간독성을 유발시킨 후 적출한 간균질화물에서는 MWE 4의 저용량 및 고용량투여군에서 각각 41.6% 및 66.0%의 저해율을 보여 용량의존적인 경향을 나타냈으며, 뇌적출물의 경우 각각 54.1% 및 40.0%의 저해율을 나타냈다.

D-Galactosamine에 의해 유발된 간독성에 대해 간적출물에서는 MWE 4의 100 mg/kg 및 200 mg/kg 투여군에서 각각 33.0% 및 19.9%의 저해율을 나타냈고 뇌적출물의 경우에는 저용량 및 고용량 투여군에서 공히 MDA형성 저해활성이 인정되지 않았다. 한편, MWE 4를 상법에 따라 가수분해한 바 非糖部는 $FeCl_3$ 반응 및 Mg-HCl 반응에 양성을 나타냈고 糖部는 Molisch 반응에 양성을 나타냈으며 TLC로 표준품과 비교해 본 바 glucose로 추정되었다. 지질과산화에 대한 저해활성 및 간기능 보호작용을 갖는 MWE 4는 flavonoid계 glucoside로 추정되며 앞으로 계속 이 물질에 대한 연구를 계속하고자 한다.

結 論

마디풀의 전초인 篇蓄으로부터 脂質過酸化物

形成抑制와 肝障害 改善作用을 갖는 성분을 분리하고자 MeOH 엑스를 용매분획 및 column chromatography를 행하여 생리활성을 검토한 바 그 결과는 다음과 같다.

1. MeOH 엑스는 지질과산화물 억제활성과 간장애 개선효과를 나타내었다.

2. EtOAc 분획물이 가장 강한 지질과산화물 형성 억제 효과를 나타내었다.

3. EtOAc 분획물을 column chromatography를 행하여 Rf value 0.42부근의 crude한 subfraction (MWE 4)이 과산화지질 형성 억제활성이 강함을 알 수 있었다.

4. MWE 4는 $FeCl_3$ 반응, Mg-HCl 반응에 양성을 나타내어 활성물질은 flavonoid계열의 화합물일 것으로 추정되었다.

5. MWE 4는 사염화탄소 간장애 유발시킨 생쥐에 대하여 간장애 보호효과를 나타내나 D-galactosamine 유발 간장애에 대하여는 보호효과를 나타내지 못하였다.

6. MWE 4는 사염화탄소 간장애 생쥐의 뇌와 간에서 지질과산화물 형성 억제 효과를 나타내며, D-galactosamine으로 장해를 유발한 경우, 간에서는 지질과산화물 형성억제 효과를 보이나, 뇌에서는 인정되지 않았다.

(1994년 1월 14일 접수 : 2월 4일 수리)

參 考 文 獻

1. 육장수 : 현대본초학, 고문사, p.311 (1972).
2. 허 준 : 東醫寶鑑, 南山堂(1988).
3. Khvorost, P.P.: *Khim. Prir. Sodin.* 6, 840 (1980).
4. Xu, L. and Liu, A.: *Yaoxue Xuebao* 18, 700 (1980).
5. Deals, F.: *J. Pharm. Belg.* 10, 353 (1928).
6. Inokuchi, J. and Okabe, H.: *Chem. Pharm. Bull.* 33, 264 (1985).
7. Panosyan, A.G. and Barikyan, M.L.: *Khim. Farm. Zh.* 20, 190(1986).
8. Aluf, M.A.: *Farmakol. Toksikol.* 8, 34 (1945).
9. Kumazawa, N.: 약학잡지 111, 199 (1991).
10. Kumazawa, M., Ohta, S., Ishizuka, O., Sakurai, N., Kamogawa, A. and Shinoda, M.: 약학잡지

- 86, 271 (1978).
11. Uchiyama, M. and Mihara, M.: *Anal. Biochem.* **110**, 950 (1990).
 12. Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Pathol.* **28**, 53 (1957).
 13. Masugi, F. and Nakamura, T.: *Vitamines* **51**, 21 (1977).
 14. Takeda, S.: 일본약리학잡지 **85**, 193 (1985).
 15. Kiso, Y., Tohkin, M. and Hikino, H.: *Planta Medica* **49**, 222 (1983).
 16. Reynolds, E.S. and Ree, H.J.: *Lab. Invest.* **25**, 269 (1971).
 17. Recknagel, R.O.: *Pharmacol. Rev.* **18**, 276 (1967).
 18. Recknagel, R.O.: *Pharmacol. Rev.* **19**, 145 (1967).
 19. Noguchi, T., Fong, K.-L., Lai, E.K., Alexander, S.S., Kang, M.W., Olson, L., Poyer, J.L. and McCay, P.B.: *Biochem. Pharmacol.* **31**, 615 (1982).
 20. Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. and Decker K.: *Exp. Mol. Pathol.* **9**, 279 (1968).
 21. 大石誠子: 최신의학 **33**, 660 (1979).
 22. 한병훈, 박명환: 생약학회지 **9**, 169 (1978).
 23. Yamanaka, Y.: 일본약리학잡지 **10**, 108 (1979).
 24. 한병훈, 유시용, 박명환, 이해정: 생약학회지 **10**, 108 (1979).
 25. Bosisio, E., Benell, C. and Pirola, O.: *Pharmacol Res.* **25**, 147 (1992).
 26. Carini, R., Comoglio, A., Albano, E. and Poli G.: *Biochem. Pharmacol.* **43**, 211 (1992).
 27. Li, S.: 중국약리학잡지 **22**, 342 (1991).
 28. Li, S.: 중국약리학잡지 **10**, 353 (1989).
 29. Jose, P.J. and Slater, T.F.: *Biochemical J.* **128**, 141 (1972).
 30. Ikekawa, T., Nakanish, M., Uehara, N., Chihara G. and Fukuoka, F.: *GANN* **59**, 155 (1968).