

## 아세트아미노펜 유도 흰쥐에서 수산생물자원 추출물의 *in vivo* 간보호작용

최종원\* · 박종철<sup>†</sup>

\*경성대학교 약학과, 순천대학교 한약자원학과

(Received June 18, 1996)

### Protective Effect of Marine Natural Products on the Hepatic Lipid Peroxidation in Acetaminophen-treated Rats

Jong-Won Choi\* and Jong-Cheol Park<sup>†</sup>

\*College of Pharmacy, Kyongsung University, Pusan 608-736, Korea  
Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University,  
Suncheon 540-742, Korea

**Abstract**—The study was initiated to elucidate the protective mechanism by examining *in vivo* effect of some marine natural products, *Styela plicata*, *Ecklonia stolonifera* and *Pachymeniopsis elliptica* on acetaminophen-induced lipid peroxidation. The methanol extract of *S. plicata* prevented acetaminophen (800 mg/kg, i.p.)-induced hepatotoxicity in rats as evidenced by the decreased formation of lipid peroxide. But the methanol extracts of *E. stolonifera* and *P. elliptica* were not affected on the formation of lipid peroxidation. The activities of cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase and aniline hydroxylase were not changed by the treatment with *S. plicata* in comparison with acetaminophen-treated group. In acetaminophen-treated control rats, the glutathione S-transferase activity was decreased markedly. However, in *S. plicata* pretreated group, the effect caused by acetaminophen was markedly reduced. Acetaminophen decreased the level of hepatic glutathione, which was restored to same degree by *S. plicata* pretreatment. And activity of  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase was not changed by *S. plicata* pretreatment, but the activity of glutathione reductase was increased significantly.

**Keywords** □ *Styela plicata*, acetaminophen-treated rat, lipid peroxide, glutathione S-transferase, glutathione reductase, marine natural product, anti-hepatotoxicity.

최근 채집, 양식 및 분석기술의 발달과 함께 관련분야 학문의 진보에 힘입어 수산생물에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 지구상 존재하는 전체 생물중 80% 이상이 해양환경에 서식하고 있는 것으로 알려져 그 생물종의 다양성에 있어서 해양은 무궁무진한 자원의 보고이다. 육상과는 다른 특이한 생태계를 이루는 환경 때문에 적자생존의 경쟁속에서 살아남기 위하여, 특히 물리적 방어능력이 부족한 이들 생물의 2차대사산물은 육상생물의 그것과는 상이한 화학적 특성을 가지게 되는 경

우가 많다. 이러한 다양한 2차 대사산물은 화학적 방어수단의 일환으로 생성되는 것으로 알려져 있는데 이들 물질이 인체나 다른 포유동물에 투여되면 강력한 생리활성을 발현할 수가 있다. 이러한 이유로 수산생물로부터 새로운 생리활성을 이용하여 인류의 건강보존에 이용하고자 하는 연구가 각광을 받고 있다. 그 결과 해조, 해변, 연체 및 원색동물로부터 지금까지 3,000이 넘는 신규화합물이 얻어졌으며 이중 항암제, 항염증제 등의 개발이 임박한 화합물들도 포함되어 있다.<sup>1)</sup> 저자들은 수산생물자원의 활성연구로서 수중 해조류 및 어패류 추출물들에 대한 시험관내 지질과산화 생성억제효과를 검색하였다.<sup>2)</sup> 이에 대한 계속연구로서 수산생물자원 추

<sup>†</sup> 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 0661-50-3662 (팩스) 0661-52-8551

출물을 전처리한 흰쥐에서 acetaminophen의 투여로 야기되는 생체내 간장 효소활성을 관찰하였다.

## 실험방법

### 실험재료

수산생물자원으로 사용한 재료는 *Ecklonia stolonifera*(곰피), *Pachymeniopsis elliptica*(참도박), *Styela plicata*(오만둥이)이며, 이들을 각각 MeOH로서 실온에서 냉침한후 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 재료는 전남대학교 해양학과 김광용교수에 의해 동정하였으며, 순천대학교 한약자원학과에 보관중이다.

### 동물 및 처치

대학 동물사에서 일정한 조건(온도 :  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도 : 60%, 명암 : 12시간 light/dark cycle)으로 사육한 150~200 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하여 *E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata*의 MeOH 추출물 500 mg/kg을 경구로 2주간 투여하고 마지막 투여일에 acetaminophen (800 mg/kg)을 복강내 주사하여 24시간 후 치사시켰으며, 실험동물은 실험전 24시간 동안 물만주고 절식시켰다.

### 효소원의 조제

실험동물을 탄산가스로 마취하고 복부 대동맥으로부터 혈액을 채취하여 실혈사 시킨후 생리 식염수로 관류시킨 간장을 적출하여 간 조직 1 g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하여 glass teflon homogenizer로 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 이 상등액을 105,000×g에서 1시간 초원심분리하여 cytosolic fraction과 microsomal fraction을 분리하였다. Cytosolic fraction은 glutathione S-transferase, glutathione reductase 및  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase 활성의 효소원으로, microsomal fraction은 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase의 활성측정에 사용하였다.

### 간조직중 지질과산화의 함량측정

Ohkawa 등<sup>3)</sup>의 방법에 준하여 간조직을 생리식염수에 10%로 균질액 0.4 ml에 8.1% sodium sulfate 1.5

ml, 20% acetate buffer(pH 3.5) 1.5 ml 및 0.8% thiobarbituric acid 1.5 ml를 가하여 95°C에서 1시간 반응시킨 후 냉각시켰다. 5.0 ml의 n-butanol-pyridine(15 : 1)을 가하여 추출한 다음 n-butanol-pyridine층을 532 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선에 준하여 malondialdehyde양을 산정하였다.

### Cytochrome P-450의 활성 측정

Omura와 Sato 등<sup>4)</sup>의 방법에 준해 시험관에 1 mM EDTA, 20% glycerol, 0.5% sodium cholate 및 0.4% Triton N-101이 함유된 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 microsomal suspension(1 mg Protein/ml)을 첨가한 후 sodium dithionite를 넣고 혼합한 다음 탄산가스를 1분간 bubbling시켰다. Bubbling이 끝난 후 파장 400~500 nm에서 흡광도를 측정하고 450~490 nm에서 흡광도의 차이를 cytochrome P-450 CO complex에 의한 흡광계수  $91 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 을 이용하여 산정하였다.

### Aminopyrine N-demethylase의 활성 측정

Nash<sup>5)</sup>의 방법에 준해 반응액 2 ml중 0.1  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  phosphate buffer(pH 7.5)에 2.0 mM aminopyrine, 0.5 mM NADPH 및 15%  $\text{ZnSO}_4$ 와 포화  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 를 가하여 반응을 종료시켰다. 1,000×g에서 10분간 원심분리한 후 상등액 1 ml에 Nash시액 5.0 ml를 가하여 60°C에서 30분간 발색시킨 후 425 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Aniline hydroxylase의 활성 측정

Bidlack과 Lowery<sup>6)</sup>의 방법에 준하여 반응액 2 ml중 0.1 M  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  phosphate buffer(pH 7.5)에 1 mM aniline과 0.5 mM NADPH 및 효소액 (300~400  $\mu\text{g}$  단백질)을 가해 37°C에서 30분간 반응시켰다. 0.5 ml의 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2% phenol 함유)을 가해 실온에서 20분간 방치후 640 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Glutathione S-transferase의 활성 측정

Habig 등<sup>7)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.5 ml에 0.1 mM potassium phosphate (pH 6.5)에 1 mM glutathione, 1 mM 1-chloro 2,4-dinitrobenzene 및 0.1 ml 효소액을 가하여 25°C에서 2분간 반응시켰다. 이때

생성되는 thioether를 340 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 흡광계수  $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 을 이용하여 효소의 활성도를 산정하였다.

### 간조직중 glutathione의 정량

Ellman<sup>8)</sup>의 방법을 약간 변경하여 10% 간조직 1 ml에 1 ml/mM EDTA가 함유된 5% trichloroacetic acid를 가하여 원심분리한 후 상등액 0.5 ml를 취하였다. 0.5 ml ninhydrin시약을 가한후 10분간 가열하여 냉수에 냉각하고 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. Non-protein-SH에서 cystein을 제한값을 glutathione의 양으로 하였다.

### $\gamma$ -glutamylcystein synthetase의 활성 측정

Meister와 Richman<sup>9)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.5 ml중 0.1 M tris HCl buffer(pH 8.0), 8.9 mM L-glutamic acid, 0.94 mM EDTA, 3.2 mM MgCl<sub>2</sub>, 1.35 mM ATP와 효소액(100~300  $\mu\text{g}$  단백질)을 가하여 37°C에서 10분 반응시킨 후 600 nm에서 효소의 활성을 측정하였다.

### Glutathione reductase의 활성 측정

Mize 와 Langdon<sup>10)</sup>의 방법에 준하여 반응액 3.0 ml중 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.9), 0.94 mM EDTA, 4.6 mM oxidized glutathione, 0.16 mM NADPH 및 효소액(400~600  $\mu\text{g}$  단백질)을 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 340 nm에서 NADPH의 감소되는 양을 측정하였다.

### 단백질 정량 및 통계처리

Lowry 등<sup>11)</sup>의 방법에 준하여 bovine serum

albumin(Sigma, Fr. IV)을 표준품으로, 통계처리는 Duncan's multiple range test로 하였다.

## 실험결과

### 지질과산화 생성에 미치는 영향

*E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata* MeOH 추출물 (500 mg/kg)을 경구로 2주간 전처리하고 acetaminophen(800 mg/kg)을 복강내 주사한 후 간조직중 지질과산화의 함량을 관찰하였다(Table 1). 생리 식염수를 투여한 대조군에서의 지질과산화의 함량이 acetaminophen을 투여하므로써 약 2배로 현저히 증가되던 것이 *E. stolonifera*, *P. elliptica*의 전처리에서는 별다른 영향이 없었으나, *S. plicata*를 전처리 하므로써 acetaminophen을 단독으로 투여한 군보다 대조군의 수준에는 미치지 못하였으나, 22% 현저히 감소되었다.

### Acetaminophen투여에 따른 간 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 활성에 미치는 영향

Table I에서 추출물의 전처리로 acetaminophen에 의한 간조직중 지질과산화의 생성이 현저히 감소되는 기전을 추구할 목적으로 acetaminophen의 일차 대사 과정인 microsomal 효소계를 관찰한 성적이 Table II 이다. Cytochrome P-450의 경우 대조군에 비하여 acetaminophen을 단독 투여하므로써 약 180%로 활성이 증가되었으나 수산생물의 추출물을 전처리하고 acetaminophen을 투여하여도 acetaminophen의 단독 투여군과 활성의 변동은 관찰 할 수 없었다. Aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase의 활성 변동도 cytochrome P-450의 활성과 유사

**Table I**— Effect of some marine natural products on the hepatic lipid peroxidation content in rats treated with acetaminophen

Group	Dose(mg/kg)	Content	
		malondialdehyde n mole/g of tissue	Percentage
Control	0	18.2±0.99 <sup>a</sup>	
Acetaminophen	800	35.9±4.29 <sup>b</sup>	100
<i>Ecklonia stolonifera</i>	500	37.7±3.17 <sup>b</sup>	105
<i>Styela plicata</i>	500	28.0±2.18 <sup>c</sup>	78
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	500	32.9±1.88 <sup>b, c</sup>	91

Values are mean±S.D. for five animals. Values followed by the same letter are not significantly different from control(P<0.05).

**Table II**— Effect of some marine natural products on the hepatic microsomal cytochrome P-450(P-450), aminopyrine N-demethylase (AD) and aniline hydroxylase(AH) activities in rats treated with acetaminophen

Group	Dose (mg/kg)	Activity		
		P-450*	AD**	AH***
Control	0	0.47±0.046 <sup>a</sup>	0.47±0.046 <sup>a</sup>	4.07±0.18 <sup>a</sup>
Acetaminophen	800	0.84±0.081 <sup>b</sup>	0.84±0.081 <sup>b</sup>	6.37±0.37 <sup>b</sup>
<i>Ecklonia stolonifera</i>	500	0.80±0.076 <sup>b</sup>	0.80±0.076 <sup>b</sup>	6.28±0.29 <sup>b</sup>
<i>Styela plicata</i>	500	0.82±0.093 <sup>b</sup>	0.82±0.093 <sup>b</sup>	6.13±0.37 <sup>b</sup>
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	500	0.81±0.081 <sup>b</sup>	0.81±0.081 <sup>b</sup>	6.48±0.33 <sup>b</sup>

Each values are mean±S.D. for five animals. Values followed by the same letter are not significantly different from control (P<0.05).

\*n mole/mg protein, \*\*HCHO n mole/mg protein/min, \*\*\*p-aminophenol n mole/mg protein/min.

**Table III**— Effect of some marine natural products on the hepatic glutathione S-transferase activity in rats treated with acetaminophen

Group	Dose(mg/kg)	Activity	
		Conjugated 1, 2-dinitro-4-nitrobenzene	Percentage
Control	0	188.1±16.07 <sup>a</sup>	
Acetaminophen	800	113.6±10.30 <sup>b</sup>	100
<i>Ecklonia stolonifera</i>	500	111.0±12.27 <sup>b</sup>	97
<i>Styela plicata</i>	500	143.9±10.07 <sup>c</sup>	127
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	500	125.7±12.15 <sup>b, c</sup>	111

Each values are mean±S.D. for five animals. Values followed by the same letter are not significantly different from control(p<0.05).

**Table IV**— Effect of some marine natural products on the hepatic glutathione content in rats treated with acetaminophen

Group	Dose(mg/kg)	Content	
		µ mole/g of tissue	Percentage
Control	0	5.44±0.46 <sup>a</sup>	
Acetaminophen	800	2.89±0.35 <sup>b, c</sup>	100
<i>Ecklonia stolonifera</i>	500	2.68±0.28 <sup>c</sup>	93
<i>Styela plicata</i>	500	4.14±0.40 <sup>d</sup>	143
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	500	3.54±0.37 <sup>b, d</sup>	123

Values are mean±S.D. for five animals. Values followed by the same letter are not significantly different from control(P<0.05).

한 양상을 보였다.

#### Glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향

원취에 추출물을 경구 투여하고 acetaminophen을 복강주사한후 간 cytosol glutathione S-transferase의 활성을 측정하였다(Table III). Acetaminophen을 주사한 군은 113.6 1, 2-dichloro-4-nitrobenzene n mole/mg protein/min으로 대조군보다 약 40%의 현저한 활성의 감소를 나타내었다. *E. stolonifera*, *P. elliptica*를 전처리하고 acetaminophen을 투여한 군은 acetaminophen 단독 투여군과 별다른 영향이 없었으며, *S.*

*plicata*를 전처리한 군은 대조군의 수준에는 미치지 않으나 효소의 활성이 acetaminophen 단독 투여군 보다 현저히 증가되었다.

#### 간조직중 glutathione의 함량에 미치는 영향

Acetaminophen을 주사한 군은 glutathione의 농도가 2.89 µ mole/g of tissue로 대조군 5.44 µ mole/g of tissue 보다 약 47%로 glutathione의 농도가 현저히 감소되었다(Table IV). 한편 *S. plicata*를 전처리한 군은 acetaminophen 단독 투여군 보다 현저히 증가되었으며, *E. stolonifera*, *P. elliptica*를 전처리하고 a-

**Table V**—Effect of some marine natural products on the hepatic glutathione reductase(GR) and  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase(GS) activities in rats treated with acetaminophen

Group	Dose(mg/kg)	Activity	
		GR*	GS**
Control	0	27.1±2.63 <sup>a</sup>	15.5±3.05 <sup>ns</sup>
Acetaminophen	800	13.8±13.6 <sup>b</sup>	17.1±3.30
<i>Ecklonia stolonifera</i>	500	14.2±1.06 <sup>b</sup>	16.8±3.24
<i>Styela plicata</i>	500	19.0±1.85 <sup>c</sup>	16.3±3.24
<i>Pachymeniopsis elliptica</i>	500	16.3±1.16 <sup>b, c</sup>	17.2±3.28

Values are mean±S.D. for five animals. Values followed by the same letter are not significantly different from control(p<0.05). ns : not significant.

\* : glutathione n mole/mg protein/min

\*\* : Pi n mole/mg protein/min.

acetaminophen을 투여한 군은 acetaminophen 단독 투여군과 별다른 영향이 없었다.

### Glutathione의 생성계에 미치는 영향

3종 추출물을 경구 투여하고 acetaminophen을 복강 내에 주사하고서 glutathione의 생성계 효소인 glutathione reductase 및  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase의 활성을 관찰하였다(Table V). Glutathione reductase 활성에서 acetaminophen투여군은 13.8 glutathione n mole/mg protein/min으로 대조군 보다 약 49% 현저히 활성이 감소되었다. *E. stolonifera*, *P. elliptica*를 전처리하고 acetaminophen을 투여한 군은 영향이 없었으며 *S. plicata*를 전처리한 군은 acetaminophen단독 투여군보다 현저히 증가 되었다.  $\gamma$ -glutamylcystein synthetase의 활성에서 추출물의 투여는 영향을 미치지 못하였다.

### 고 찰

Acetaminophen은 acetanilid 및 phenacetin의 활성대사 물질로 알려지면서 phenacetin을 대체하여 최근에 비처방하에 널리 사용되는 해열 진통작용을 갖는 약물로서 경구투여시 간에서 대사받아 신장으로 배설된다. Acetaminophen은 다른 해열진통제에 비하여 위장 출혈을 일으키지 않는 이점이 있으나 과량 투여시 사람과 동물에서 치명적인 간장과 신장 괴사를 유발하는 것으로 보고되고 있다.<sup>12-14)</sup> 이러한 독성의 생성은 간 microsomal분획의 cytochrome p-450과 관련되어 일어나는 산화과정에서 조직의 macromolecule과 공유 결합하는 화학적으로 반응성이 큰 aryl기를 지닌 중간 대사물을 형성하여 이 화합물에 의하여 hepatic glu-

tathione의 농도가 적어도 50%정도 결핍되었을 때 간 조직의 괴사를 유발하므로서 독성을 발현하는 것으로 시사되고 있다.<sup>15-17)</sup> 최근까지 보고<sup>18)</sup>된 acetaminophen의 대사과정을 살펴보면 상용량에서 체내로 투여된 acetaminophen은 sulfate와 glucuronic acid 포함체를 형성하여 정상적인 대사계를 거쳐서 배설되지만 고용량의 투여시 hepatic glutathione과 포함하여 acetaminophen mercapturate cysteine으로 뇨중으로 배설되나, 이때 hepatic glutathione이 결여되므로 해독능이 감소되어 반응성이 강한 물질이 생성되며 이 반응성 물질이 간괴사를 유발한다.

바다생물을 식용으로 하였던 것은 아마 인류의 탄생과 함께 시작되었다고 할 수 있으며 인류의 역사와 함께 그 대상은 근해에서 깊은 바다에 생식하는 생물로 넓게 퍼져 갔다. 그러나 물이라는 매체의 방해에 의해 해양생물의 식용이외의 이용, 예를 들면 의약자원으로서의 이용은 제한되어 왔으나 육상생물에 없는 특유의 대사양식을 가지며 식물과는 다른 새로운 생물활성물질이 기대됨에 따라 앞으로는 신규 천연물의 탐색 가능성이 해양 천연물에서 보다 관심이 높으며 이에 대한 연구도 활성화되어 가고 있는 추세이다. 저자들은 이러한 연구의 일환으로서 수종의 해조류 및 어패류에 대한 *in vitro* 과산화지질생성 억제효과에서 *E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata* 3종 MeOH 추출물의 활성에 관해 보고한 바 있다.<sup>2)</sup> 이에 대한 계속연구로서 간장의 약물대사효소에 이들 추출물의 전처리가 acetaminophen에 의해 유도된 간독성의 경감 기전에 어떻게 작용하는가를 *in vivo*에서 실험하였다. 과산화지질은 자동산화 반응에 의한 다가 불포화지방산에 산소가 부가된 생산물의 총칭이다. 생체내 지질과산화에 중요한 것은  $\beta$ 산화와 과산화인데  $\beta$ 산화는 생체내에 없어서는 안되는 반응으로

에너지 생산에 관여하는 반응이며, 과산화는 고농도로 불포화된 지방산의 이중결합에 탄화수소에서 수소를 생성하여 free radical이나 활성산소가 생기는 반응이다. Free radical은 내 외인성 요인에 의한 친전자성 물질로 생체내에서 독작용, 노화, 발암 및 면역 억제작용 등을 유발하는 원인 물질로 과산화지질의 생성은 병태 생리 현상이나 조직의 손상 정도를 나타내는 지표로서, 세포막의 투과성을 항진시킬 뿐만 아니라 전반적인 세포독성을 초래하여 세포기능을 저하시키며 괴사에 관여하여 노화현상이나 이에 따른 여러 가지 질환의 병리 현상을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>19-22)</sup> 이러한 점을 고려하여 acetaminophen을 상용량 보다 과량을 투여시 증가되는 지질과산화의 생성에 *E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata* MeOH 추출물 500 mg/kg을 2주간 경구투여하여 전처리 하였다. 그중 *S. plicata*의 처리군에서 acetaminophen의 투여로 현저히 증가되던 지질과산화의 함량이 약 22% 억제되었다. 일반적으로 간장에서 일어나는 약물의 대사계는 간 세포의 smooth endoplasmic reticulum에 존재하는 phase 1반응으로부터 시작되는 일련의 반응으로서 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase의 효소계가 관련되고 있다.<sup>23, 24)</sup> Acetaminophen은 과량의 투여로서 이 효소계를 거쳐서 일차적으로 대사되는 점을 토대로 *E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata*을 전처리하고 acetaminophen을 투여하므로써 acetaminophen에 의해 이 효소활성은 현저히 증가되었으나 microsomal 효소계의 활성을 저하지는 못하였다. 이로부터 이들 추출물들은 microsomal계를 통한 phase 1반응에는 별다른 영향을 주지 못하는 것으로 생각된다. 내인성 물질이나 약물을 포함한 xenobiotics들은 주로 간장에서 대사되어 활성을 잃게 된다. 체내에 투여되어진 약물 및 독성물질의 대사과정은 phase 1과 phase 2 반응으로 나눌 수 있다.<sup>25, 26)</sup> Phase 2 반응은 phase 1반응을 거친 약물이나 내인성 및 외인성 물질에 glucuronic acid, sulfate 및 glutathione을 결합시키는 과정에서 이 반응의 촉매효소로서 UDP-glucuronyl transferase, sulfotransferase 및 glutathione S-transferase 등을 들 수 있다.

Acetaminophen은 간질환 환자나 과량 사용할 때에 간독성을 나타내는 물질로 알려져 있다. 상용량의 투여에서는 간 microsomal UDP-glucuronyl trans-

ferase와 cytosolic sulfotransferase가 주 대사 효소계로 알려져 있으며 과량 투여시는 glutathione S-transferase에 의하여 해독되고 있는점을 감안하여 본 실험에서는 glutathione의 대사계에 이들 추출물이 어떠한 영향을 주는 가를 관찰하였다. Acetaminophen의 투여로 현저히 감소되던 glutathione S-transferase의 활성은 3종 추출물중 *S. plicata* 전처리군은 대조군의 수준에는 미치지 못하나 acetaminophen 단독 투여군 보다 현저히 증가되었다.

친전자성 물질들과 활성산소 및 과산화지질의 최종 무독한 과정에는 필연적으로 glutathione이 요구되어지며, 이 물질의 세포내 함량 유지에는 합성계 효소와 해독 반응 후 생성되는 산화형 glutathione의 재환원 효소가 관여하고 있다. *S. plicata*의 투여후 acetaminophen에 의한 glutathione의 함량 감소를 경감시키는 기전을 규명 할 목적으로 합성계의 rate-limiting 효소<sup>27, 28)</sup>인  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성과 glutathione reductase의 활성 변동은 *S. plicata*를 투여하여 관찰하였을때,  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase의 활성은 별다른 영향을 보이지 않았으나, glutathione reductase의 활성은 acetaminophen의 단독 투여군 보다 *S. plicata*를 전처리 하므로써 현저히 증가되었다. 이와 같은 결과로 보아 glutathione S-transferase의 활성이 acetaminophen의 투여로 현저히 억제되던 것이 *S. plicata*의 전처리로 증가되는 현상은 간 조직중의 glutathione의 함량 변동에 의하여 나타나는 것으로 생각되며, glutathione의 함량의 조절은 glutathione reductase의 활성변동에 의하여 조절되고 있는 것으로 사료된다. 이상을 종합하여 볼 때 *S. plicata*의 투여에 의하여 glutathione을 개입하여 해독 작용에 관여하는 효소인 glutathione S-transferase의 활성이 증가되어 acetaminophen의 대사를 촉진 시키므로써, 이에 의해 유발되는 지질과산화의 생성을 예방할 수 있을 것으로 추측된다.

## 결 론

간장에서의 약물대사효소계에 acetaminophen을 상용량 보다 과량을 투여시 증가되는 지질과산화의 생성에 대해 *E. stolonifera*, *P. elliptica*, *S. plicata*의 MeOH추출물 전처리가 acetaminophen에 의해 유도된 간독성의 경감 기전에 미치는 영향을 생체내 실험하였다. 그중

*S. plicata*의 처리군에서 acetaminophen의 투여로 현저히 증가되던 지질과산화의 함량이 억제되었다. Acetaminophen투여에 따른 간 cytochrome P-450, aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 활성에 미치는 영향을 관찰하였을 때 3종의 추출물을 전처리하고 acetaminophen을 투여하여도 acetaminophen의 단독 투여군과 활성의 변동은 관찰할 수 없었다. 그러나 glutathione S-transferase 활성에서는 acetaminophen투여군은 대조군보다 약 40% 활성 감소를 나타내며 *S. plicata*를 전처리한 군은 대조군의 수준에는 미치지 않으나 효소의 활성이 acetaminophen 단독 투여군 보다 현저히 증가되었다. 간 조직중 glutathione의 함량은 *S. plicata*를 전처리 군에서 acetaminophen 단독 투여군 보다 증가 되었다. Glutathione reductase 활성에서는 acetaminophen투여군은 대조군 보다 49% 활성이 감소되었으며 *S. plicata*를 전처리한 군은 acetaminophen단독 투여군보다 현저히 증가 되었으나 *E. stolonifera*, *P. elliptica* 군에서는 영향을 미치지 못하였다. 그러므로 *S. plicata*의 투여는 glutathione S-transferase 활성을 증가시켜 acetaminophen의 대사를 촉진 시키므로써, 이에 의해 유발되는 지질과산화 생성을 억제하는 것으로 추정된다.

### 감사의 말씀

이 연구는 1995년도 교육부 학술연구조성비(해양, 수산과학분야) 지원에 의한 결과의 일부이며, 해조류를 동정하여 주신 전남대학교 해양학과 김광용 교수님께 감사드립니다.

### 문헌

- 1) 伏谷伸宏 : 수산식품중의 약효성분. 식품공업 33, pp. 22-27 (1990).
- 2) Park, J. C. and Choi, J. W. : Screening of marine natural products on inhibitory effect of the formation of lipid peroxidation. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**, in press.
- 3) Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351 (1979).
- 4) Omura, K. and Sato, R. : The carbon monoxide binding pigments of liver microsomes. In Evidence for its hemoprotein nature. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370 (1964).
- 5) Nash, R. : The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hentsch reaction. *J. Biol. Chem.* **55**, 416 (1953).
- 6) Bidlack, R. and Lowery, G. L., Multiple drug metabolism: p-Nitroaniline reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *Biochem, Pharmacol.* **31**, 311 (1982).
- 7) Paglia, E. D. and Valentine, W. N. V. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* **70**, 158 (1967).
- 8) Ellman, G. L., Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.* **82**, 70 (1959).
- 9) Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. V., Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130 (1974).
- 10) Meister, A. and Richman, P. G. : Regulation of  $\gamma$ -glutamylcysteine synthesis by nonallosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.* **250**, 1422 (1975).
- 11) Lowry, D. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Rendall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
- 12) Mitchell, J. R., Thorgeirsson, S. S., Potter, W. Z., Jollow, D. J. and Kaiser, H. : Acetaminophen-induced hepatic injury-protective role glutathione in man and rationale for therapy. *Clin. Pharmacol, Ther.* **16**, 676 (1974).
- 13) Miners, J. O., Drew, R. and Birkett, D. J. : Mechanism of action of paracetamol protective agent in mice in vivo. *Biochem. Pharmacol.* **33**, 2955 (1984).
- 14) Clissoid, S. P. : Paracetamol and phenacetin. *Drugs* **4**, 46 (1986).
- 15) Prescott, L. F. and Critchley, J. A. : The treatment of acetaminophen poisoning. *Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**, 87 (1983).
- 16) Lin, J. H. and Levy, G. : Effect of prevention of inorganic sulfate depletion on the pharmacol-

- kinetic of acetaminophen in rats. *J. pharmacol. Exp. Ther.* **239**, 94 (1986).
- 17) Smilkstein, M. J., Knapp, G. L., Kulig, K. W. and Rumack, B. H. : Efficacy of oral N-acetylcystein in the treatment of acetaminophen overdose. *N. Engl. J. Med.* **319**, 1557 (1988).
- 18) Katzung, B. G. : Basic and Clinical Pharmacology, a Lange medical book. *Prentice-hall International Inc. 5th edition(Norwalk, CT)*, pp. 49-56 (1995).
- 19) Chow, C. K. and Tappel, A. L. : Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J. Nutri.* **104**, 444 (1974).
- 20) Leibovitz, B. E. and Siegel, B. V. : Aspects of free radical, reactions in biological systems. *Ag-ing. J. Gerontol.* **35**, 45 (1980).
- 21) Curtis, M. T., Gilford, d. and Farber, J. L. : lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes. *Arch. Biochem. Biophys.* **235**, 644 (1984).
- 22) Cirotti, A. W., Thomas, J. P. and Jordan, J. E. : Lipid peroxidation in erythrocyte ghosts: Sensitization of membrane toward ascorbate- and superoxide-induced peroxidation and lysis. *Arch. Biochem. Biophys.* **236**, 238 (1985).
- 23) Fried, R. : Enzymatic and non-enzymatic assay of superoxide dismutase. *Biochemie.* **57**, 657 (1975).
- 24) Jakoby, W. B. : The glutathione S-transferase. A group of multifunctional detoxification proteins. *Adv. Enzymol.* **46**, 383 (1978).
- 25) freeman, B. A. and Crapo, J. D. : Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412 (1982).
- 26) Trush, A. M., Minnaugh, E. G. and Gram, T. E. : Activation of pharmacologic agents to radical intermediates -Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3335 (1982).
- 27) Meister, A. and Richman, P. G. : Regulation of  $\gamma$ -glutamylcystein synthesis by non allosteric feedback inhibition by glutathione. *J. Biol. Chem.* **250**, 1422 (1975).
- 28) Mize, C. E. and Langdon, R. G. : Hepatic glutathione reductase. I. Purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.* **237**, 1589 (1962).