

어성초 분획물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간손상에 대한 보호효과

김 옥 경*

대진대학교 식품영양학과

Protective Effects of *Houttuynia cordata* Thunb on Carbon Tetrachloride-induced Hepatotoxicity in Rats

Ok-Kyung Kim*

Dept. of Food and Nutrition, Daejin University, Po Chon Kyung Ki Do 487-711, Korea

Abstract – This study was performed to investigate the protective effect of *Houttuynia cordata* Thunb on hepatotoxicity in carbon tetrachloride(CCl₄) intoxicated rats. The examined effects hexane, chloroform, butanol and water fractions prepared from the *Houttuynia cordata* Thunb methanol extract and rats were administrated with those orally once a day for successive 6 days, followed by treatment with CCl₄ on the sixth day. After 6 days, the activities of aminotransferase, alkalinephosphatase, γ -glutamyl transpeptidase, lactate dehydrogenase and contents of triglyceride, hepatic lipid peroxide in butanol fraction pretreated rats were significantly decreased compared to the only CCl₄ treated rats, also depletion glutathione content induced by treatment with CCl₄ was prevented by butanol fraction pretreated rats. In addition, activities of hepatic superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in butanol fraction pretreated rats were significantly decreased compared to the only CCl₄ treated rats, but the activity of hepatic glutathione-S-transferase was not significantly effect. These results suggest that butanol fraction of *Houttuynia cordata* Thunb methanol extract have potent hepatoprotective effect against carbon tetrachloride intoxicated rats.

Key words – carbon tetrachloride, *Houttuynia cordata* Thunb, hepatoprotective effect.

생존의 필수 물질인 산소는 체내의 여러 대사 과정을 거쳐 free radical을 만들어 유해 세균의 살균 작용이나 노화된 단백질의 제거등에 이용되지만 과량으로 만들어진 free radical이 소거되지 않으면 생체의 노화나 질병으로 이어진다.¹⁻³⁾ 세포의 독성을 일으키는 물질 중 합성이나 분리를 위해 사용되고 있는 사염화탄소는 xenobiotics로써 생체 세포내의 복합 다기능 산화 기구에 의해 trichloromethyl radical(\cdot CCl₃)이 세포막의 인지질을 공격하여 지질과산화 반응을 일으켜 간세포의 괴사를 일으킨다.⁴⁻⁶⁾ 따라서 최근에는 이의 예방이나 치료를 위해 식용 및 약용 식물등의 천연물을 통한 free radical의 생성 억제 작용에 대한 실험들이 많이 보고 되었다.⁷⁻¹⁰⁾ 어성초는 삼백초과(Saururaceae)의 여러해살이풀 약모밀(*Houttuynia cordata* Thunb)의 전초로써 해열, 해독, 폐렴, 말라리아, 수종, 백대하, 치질, 피부병등의 치료¹¹⁾와 항균, 이뇨, 진통, 지혈, 조직 재생 촉진 등의 작용¹²⁾

에 쓰이며 최근에는 항산화성,¹³⁾ herpes simplex virus type 1, human immunodeficiency virus type 1 및 influenza virus에 대한 억제 효과,¹⁴⁾ 항종양,¹⁵⁾ 항백혈병,¹⁶⁾ 고지혈 억제 효과,¹⁷⁾ 카드뮴에 대한 독성억제효과,¹⁸⁾ 브로모벤젠대사계에 미치는 어성초의 영향¹⁹⁾등이 보고 되었다. 한편 성분 연구로는 포화지방산이 39.80%, 불포화지방산이 59.76%로 주로 정유 성분^{20,21)}이며, alkaloids,^{15,22)} flavonoids,^{19,23)} steroid²⁴⁾ 등이 보고 되었다. 따라서 본 연구에서는 어성초의 메탄올 추출물이 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간을 보호하는 효능이 있음을 확인하고 그 추출물을 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 H₂O의 용매로 분획하여 이들 분획물이 간 손상 보호 효과에 어떠한 영향을 주는지를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 실험에 사용한 어성초는 2000년 9월에 경

*교신저자(E-mail) : okkim@road.daejin.ac.kr

기도 김포에서 채집하여 감정 후 음건 세절하여 사용하였으며 표본은 대전대 생명과학과 표본실(표본 번호 : K-001738)에 보관중이다

시약 및 기기 - 시약은 carbon tetrachloride (Janssen Co., Japan), olive oil (Yakuri Co., Japan) sodium azide, glutathione, glutathione reductase, NADPH, cumene hydroperoxide, 1-chloro-2,4-dinitrobenzen(CDNB), 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), xanthine, xanthine oxidase, cytochrome C, sodium deoxycholate, 1,1,3,3,-tetraethoxypropane, thiobarbituric acid, bovine serum albumin(Sigma Co., U.S.A.)을 사용하였으며, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase(AST), alkaline phosphatase(AIP), γ -glutamyltransferase(γ -GT), cholesterol, triglyceride(TG) kit는 영동제약(Korea), lactate dehydrogenase (LDH) kit는 아산제약(Korea)의 것을 사용하였고, 나머지 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

기기는 rotary vaccum evaporator(Eyela Co., Japan), deep freezer(Hannil Co., Korea), Centrifuge(Hannil Co., Korea), UV spectrometer(Hitachi, Japan), Homogenizer(Omni, U.S.A.), Ultracentrifuge(Beckman, U.S.A.)등을 사용하였다.

검액의 조제 - 어성초 600 g을 95% methanol 로 5시간씩 3회 가열 추출하고 감압·농축하여 100 g(수율 16.7%)의 추출물을 얻었다. 이를 용매에 따라 분획하여 감압·농축하여 hexane 분획물 28 g(28%), chloroform 분획물 3 g(3%), ethylacetate 분획물 10 g(10%), *n*-butanol 분획물 17 g(17%) 및 H₂O 분획물 42 g(42%)을 얻었다.

실험동물 및 사염화탄소를 이용한 급성 독성 유발 - 체중 190±10 g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 1주일간 적응시킨 후 평균 체중 210±10 g인 것을 7군으로 나누어 사용하였고, 동물실 온도는 22-25°C와 명암 주기 12시간 (07:00-19:00)이 자동 조절된 동물 사육실에서 고품사료(삼양유지 Co.) 및 물을 자유로이 섭취토록 하였다. 메탄올 추출물은 각각 500 mg/kg과 1,000 mg/kg, 분획물은 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 H₂O 등의 용매로 얻어진 수율에 따라 각각 840 mg/kg, 90 mg/kg, 300 mg/kg, 510 mg/kg 및 1,260 mg/kg B.W의 용량으로 0.5% CMC액에 현탁시켜 흰쥐의 체중 kg당 10 ml씩 1일 1회 6일간 경구 투여한 후 최종 분획물 투여 6시간 후에 Rao 등의 방법²⁵⁾을 보완, 수정하여 흰쥐에게 사염화탄소 0.6 mg/kg [CCl₄: Olive oil=3:2(v/v)]로 1.0 mg/kg씩 복강내 투여하여 급성간 독성을 유발시켰다.

효소원 조제 및 분석 - 사염화탄소를 복강 투여 후 18시간 동안 절식시키고 흰쥐를 ether로 마취하여 복부를 절개

하여 심장에서 직접 채혈하고 간을 적출하였다. 적출한 간은 생리식염수로 장기 표면에 묻어 있는 혈액을 씻은 후 여지로 남아 있는 생리식염수를 제거한 다음 무게를 측정하고 후 -70°C에 냉동 보관하였다가 본 실험에 사용하였다. 채취한 혈액은 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청중의 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST) 활성도는 Reitman-Frankel의 방법,²⁶⁾ alkaline phosphatase(AIP) 활성도는 Kind-King의 변법,²⁷⁾ γ -glutamyltransferase(γ -GT) 활성도는 Szaz의 방법,²⁸⁾ lactate dehydrogenase(LDH) 활성도는 King의 방법,²⁹⁾ cholesterol과 triglycerides(TG)의 함량은 Belcher 등의 방법³⁰⁾에 따라 측정하였다. 한편, 적출한 간은 1 g에 4배의 0.1 M 인산용액(pH 7.4)을 가하여 균질화 시킨 후 1차 원심분리(600×g, 15분)하여 상등액을 얻고, 이 상등액을 2차 원심분리(10,000×g, 20분)하고 그 상등액을 105,000×g로 1시간 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻어 glutathione peroxidase(GSH-Px), glutathione-S-transferase(GST), superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT) 활성의 효소원으로 사용하였고, 간 조직중의 지질과산화물과 glutathione(GSH) 함량은 각각 Uchiyama 등의 방법³¹⁾과 Ellman의 방법³²⁾에 따라, glutathione peroxidase 활성도는 Flohe 등의 방법,³³⁾ glutathione-S-transferase 활성도는 Habig 등의 방법,³⁴⁾ superoxide dismutase 활성도는 Cropo 등의 방법,³⁵⁾ catalase 활성도는 Aebi의 방법,³⁶⁾ 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법³⁷⁾에 따라 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험 결과는 평균치와 표준±표준 오차로 계산하였고, 각 군간의 차이는 Student's *t*-test를 실시하여 *p*값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

ALT 및 AST 활성도 - 메탄올 추출물과 분획물 투여에 의한 ALT 및 AST 활성도는 Table I, Table II와 같다. 사염화탄소로 유발된 혈청중의 이들 효소는 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 혈중으로 transaminase가 유리되어 높은 활성치를 나타낸다는 Hayes³⁸⁾의 보고와 같이 정상군과 비교하여 사염화탄소만을 단독으로 투여한 군에서 각각 유의적인 증가를 나타내었다. 그러나 메탄올 추출물 500 mg/kg과 1,000 mg/kg의 용량으로 각각 투여한 군에서 사염화탄소 단독 투여군과 비교하여 ALT는 45%와 53%의 감소를 특히 1,000 mg/kg을 투여한 군에서 유의적인 감소를 나타내었으며 AST는 25%와 43%의 감소를 나타내었으나 유의성은 없었다. 한편, 분획물 투여에 의한 ALT 활성도는 사염화탄소 단독 투여군과 비교하여 chloroform, ethylacetate 및 butanol 분획물

Table I. The effects of methanol extract of *Houttuynia cordata* Thunb on the serum ALT and AST activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	ALT	AST
		(KA units/l)	(KA unit/l)
Normal	-	33.63 ± 1.25 ¹⁾ (100) ²⁾	92.46 ± 7.21(100)
CCl ₄ ³⁾	-	135.98 ± 24.00 ^{##} (0)	203.30 ± 13.01 ^{##} (0)
HC ⁴⁾ + CCl ₄	500	90.31 ± 13.01(45)	175.73 ± 13.52(25)
HC + CCl ₄	1000	81.66 ± 6.07*(53)	156.15 ± 19.55(43)

¹⁾Values are the mean ± S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{##}Significantly different from normal at p<0.01 by student's *t*-test. *Significantly different from CCl₄ at p<0.05 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6 mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

⁴⁾*Houttuynia cordata* Thunb.

Table II. The effects of various fractions of *Houttuynia cordata* Thunb on the serum ALT and AST activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	ALT	AST
		(KA units/l)	(KA units/l)
Normal	-	41.99 ± 5.33 ¹⁾ (100) ²⁾	93.89 ± 13.29(100)
CCl ₄ ³⁾	-	102.57 ± 14.91 [#] (0)	171.38 ± 14.96 [#] (0)
Hexane fr. + CCl ₄	840	88.77 ± 19.93(23)	151.11 ± 14.49(26)
CHCl ₃ fr. + CCl ₄	90	66.45 ± 15.33*(60)	133.56 ± 17.42(49)
EtOAc fr. + CCl ₄	300	60.08 ± 9.60**(70)	144.59 ± 14.17(35)
BuOH fr. + CCl ₄	510	59.20 ± 19.3*(72)	114.31 ± 13.28*(74)
H ₂ O fr. + CCl ₄	1,260	102.56 ± 32.68(0.00016)	165.28 ± 26.99(0.08)

¹⁾Values are the mean ± S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). [#]Significantly different from normal at p<0.05 by student's *t*-test. ^{***}Significantly different from CCl₄ at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6 mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

Table III. The effects of methanol extract of *Houttuynia cordata* Thunb on the serum AIP, γ-GT and LDH activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	AIP	-GT	LDH
		(KA units/ml)	(mu/ml)	(wroblewski units/ml)
Normal	-	23.14 ± 2.56 ¹⁾ (100) ²⁾	36.31 ± 2.93(100)	1435.06 ± 149.59(100)
CCl ₄ ³⁾	-	36.25 ± 1.30 ^{##} (0)	67.25 ± 7.00 ^{##} (0)	3761.80 ± 207.11 ^{##} (0)
HC ⁴⁾ + CCl ₄	500	26.73 ± 4.34(73)	44.19 ± 6.58*(75)	3142.35 ± 238.71(27)
HC + CCl ₄	1000	23.32 ± 3.30*(99)	48.12 ± 4.42*(62)	3078.71 ± 283.58(29)

¹⁾Values are the mean ± S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{##}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test. *Significantly different from CCl₄ at p<0.05 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6 mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

⁴⁾*Houttuynia cordata* Thunb

을 각각 투여한 군에서 60%, 70%, 72%의 유의적인 감소, AST 활성도는 butanol 분획물을 투여한 군에서 74%로 유의적인 감소를 나타내어 메탄올 추출물과 butanol

분획물이 사염화탄소에 의한 간 손상의 보호 작용이 있음을 알 수 있었다.

AIP, γ-GT 및 LDH 활성도 - 메탄올 추출물과 분획물 투

Table IV. The effects of various fractions of *Houttuynia cordata* Thunb on the serum AIP, γ -GT and LDH activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	AIP	γ -GT	LDH
		(KA units/ml)	(mu/ml)	(wroblewski units/ml)
Normal	-	33.65 ± 2.27 ¹⁾ (100) ²⁾	31.68 ± 0.65(100)	1664.09 ± 304.33(100)
CCl ₄ ³⁾	-	52.81 ± 8.21 [#] (0)	40.95 ± 4.16 [#] (0)	4995.21 ± 425.32 ^{##} (0)
Hexane fr. + CCl ₄	840	48.73 ± 7.69(21)	31.49 ± 3.07(102)	4456.34 ± 612.08(16)
CHCl ₃ fr. + CCl ₄	90	34.93 ± 5.67(93)	28.46 ± 3.21*(135)	3364.65 ± 306.15**(49)
EtOAc fr. + CCl ₄	300	35.31 ± 4.44(91)	25.71 ± 1.59**(164)	4852.29 ± 449.95(4)
BuOH fr. + CCl ₄	510	32.78 ± 3.77*(105)	24.70 ± 1.62**(175)	3863.67 ± 315.08*(34)
H ₂ O fr. + CCl ₄	1,260	20.86 ± 3.60**(167)	23.99 ± 1.36**(183)	4585.77 ± 605.66(12)

¹⁾Values are the mean ± S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{#,##}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by students *t*-test. ^{***}Significantly different from CCl₄ at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

Table V. The effects of various fractions of *Houttuynia cordata* Thunb on the serum cholesterol and TG contents in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Cholesterol	TG
		(mg/dl)	(mg/dl)
Normal	-	55.53 ± 2.65 ¹⁾ (100) ²⁾	56.89 ± 5.70(100)
CCl ₄ ³⁾	-	65.18 ± 2.16 [#] (0)	131.16 ± 17.84 ^{##} (0)
Hexane fr. + CCl ₄	840	53.62 ± 2.71**(120)	105.54 ± 18.77(34)
CHCl ₃ fr. + CCl ₄	90	58.49 ± 0.95*(69)	63.96 ± 11.18*(90)
EtOAc fr. + CCl ₄	300	58.70 ± 2.78*(67)	47.19 ± 9.63*(84)
BuOH fr. + CCl ₄	510	59.29 ± 5.01(61)	43.55 ± 12.08**(118)
H ₂ O fr. + CCl ₄	1,260	67.47 ± 3.55(-)	52.97 ± 11.58*(105)

¹⁾Values are the mean ± S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{#,##}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by students *t*-test. ^{***}Significantly different from CCl₄ at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6 mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

여에 의한 alkaline phosphatase, γ -GT 및 LDH 활성도는 Table III, Table IV와 같다. alkaline phosphatase는 간담도계 질환이나 신장 및 골조직의 질환이 있을 때 증가를 나타내며,³⁹⁾ γ -GT는 γ -glutamylpeptide를 가수분해하여 γ -glutamyl기를 다른 peptide나 아미노산에 전이시키는 효소로써 간세포의 변성 또는 괴사가 되면 혈중으로 유출되어 활성이 증가⁴⁰⁾되며, LDH도 transaminase와 마찬가지로 간조직이 파괴되면 혈액중으로 방출되어 증가를 나타낸다. 본 실험에서도 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 이들 활성도가 유의적인 증가를 나타내었다. 메탄올 추출물 투여에 의한 alkaline phosphatase 활성도는 사염화탄소 단독 투여군에 비하여 73%, 99%의 감소를, 특

히 1,000 mg/kg을 투여한 군에서 유의적인 감소를 나타내었고, γ -GT는 75%, 62%의 유의적인 감소를, LDH는 27%, 29%의 감소를 나타내었으나 유의적인 감소는 아니었다. 한편, 분획물 투여에 의한 alkaline phosphatase 활성도는 감소를 나타내었으나 특히 butanol과 H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 105%, 167%로, γ -GT는 chloroform, ethylacetate, butanol, H₂O 분획물을 각각 투여한 군에서 135%, 164%, 175%, 183%로 유의적인 감소를 나타내었으며 이는 정상군보다도 낮은 수치를 나타내었다. 이들 효소의 활성이 억제된 것은 이들 분획물들이 사염화탄소에 의한 간조직의 손상이나 간세포막을 안정시켜서 나타나는 결과로 사료된다. LDH는 메탄올 추출물을 투여한 결과 감소

를 나타내었으나 유의성은 없었고, 분획물을 투여한 결과 chloroform과 butanol을 각각 투여한 군에서 49%, 34%로 사염화탄소 단독 투여군과 비교하여 유의적인 감소를 나타내었다.

Cholesterol 및 TG 함량

분획물이 cholesterol 및 TG 함량에 미치는 영향은 Table V와 같다. 이들의 함량은 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었다. Cholesterol 함량은 사염화탄소 단독 투여군과 비교하여 hexane, chloroform 및 ethylacetate 분획물을 각각 투여한 군에서 120%, 69%, 67%의 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 Chung 등¹⁷⁾이 어성초 에탄올 추출물을 고지방식으로 유도된 흰쥐에게 투여시 cholesterol의 함량 저하를 나타낸 보고와 유사하였다. TG 함량은 hexane 분획물을 제외한 나머지 분획물을 투여한 군에서 각각 90%, 84%, 118%, 105%의 유의적인 감소를 나타내었다. 정상적인 간 세포내의 지질 함량은 합성과 이용의 균형을 이루지만 사염화탄소에 의해 간 장해를 받으면 cytochrome P-450에 의하여 반응성이 높은 $\cdot\text{CCl}_3$ 가 생성되어 간 세포기능을 저하시켜 cholesterol과 TG의 함량이 증가된다는 보고³⁸⁾와 같이, 본 실험에서는 이들 분획물이 간 세포의 손상을 억제한 결과 정상적인 지질대사가 이루어진 결과로 사료된다.

간 조직 중의 과산화 지질과 glutathione 함량

분획물의 간 조직 중의 과산화 지질과 glutathione 함량은 Table VI와 같다. 과산화 지질 함량은 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 세포막의 구성 물질인 다가 불포화 지방산의 과산화에

의해서, 특히 사염화탄소는 간세포에서 free radical을 만들고 생체막의 구조적 변화를 일으켜 내부 효소계가 파괴됨으로써 혈액과 조직내의 과산화 지질 함량이 증가 한다는 보고⁴¹⁻⁴³⁾와 유사하였다. 그러나 chloroform과 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 72%, 80%의 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 Park 등¹⁹⁾이 어성초 메탄올 추출물 투여가 bromobenzene으로 상승된 과산화지질 함량을 감소시킨다는 보고와 비슷하였다. 본 실험 결과 과산화 지질 함량의 감소는 투여한 분획물들이 사염화탄소에 의하여 생성된 trichloromethyl radical의 생성 억제에 의해 감소된 것으로 사료된다. Glutathione 함량은 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었으며 이는 Kim 등,⁴⁴⁾ Lim 등,⁴⁵⁾이 보고한 것과 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 chloroform, ethylacetate 및 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 44%, 49%, 38%의 유의적인 증가를 나타내었다. Glutathione은 세포내의 free radical의 제거, H_2O_2 와 과산화지질등의 독성물질을 전이, 분해, 이물질의 포합 형성 반응등에 쓰이며 또한 단백질이나 DNA의 합성, 아미노기의 이동, 효소활성의 조절등 체내의 중요한 반응에 관여하는 물질^{46,47)}으로써, 본 실험 결과 이들 분획물들이 사염화탄소투여로 생성된 free radical등의 제거로 glutathione의 소모를 덜어주어 그 함량이 증가된 결과로 사료된다.

간 조직 중의 GST, SOD, Catalase 및 GSH-Px의 활성도

분획물 투여에 의한 이들 효소들의 활성 변화는 Table VII과 같다. GST는 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 감소를 나타내었고, 분획물을 투여한 모든 군에서 증가를 나타내었으나 유의성은 없었다. 이 결과는 GST가 체내에서

Table VI. The effects of various fractions of *Houttuynia cordata* Thunb on the hepatic lipid peroxide and glutathione contents in CCl_4 intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	Lipid peroxide		Glutathione	
		(MDA nmoles/g of tissue)		(moles/g of tissue)	
Normal	-	1.18 ± 0.35 ¹⁾ (100) ²⁾		7.82 ± 0.60(100)	
CCl_4 ³⁾	-	4.89 ± 1.04 ^{###} (0)		5.21 ± 0.28 ^{###} (0)	
Hexane fr. + CCl_4	840	2.83 ± 0.49(56)		5.53 ± 0.37(12)	
CHCl_3 fr. + CCl_4	90	2.21 ± 0.32*(72)		6.37 ± 0.17*(44)	
EtOAc fr. + CCl_4	300	2.23 ± 0.78(72)		6.49 ± 0.20*(49)	
BuOH fr. + CCl_4	510	1.94 ± 0.39*(80)		6.21 ± 0.35*(38)	
H_2O fr. + CCl_4	1,260	2.86 ± 0.70(55)		5.58 ± 0.17(14)	

¹⁾Values are the mean ± S.D. (n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as $100 \times (\text{value of } \text{CCl}_4 - \text{value of sample}) / (\text{value of } \text{CCl}_4 - \text{value of normal})$. ^{###}Significantly different from normal at $p < 0.05$, $p < 0.01$ by student's *t*-test. ^{***}Significantly different from CCl_4 at $p < 0.05$, $p < 0.01$ by student's *t*-test.

³⁾ CCl_4 0.6 mg/kg, B.W. [CCl_4 : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment.

Table VII. The effects of various fractions of *Houttuynia cordata* Thunb on the hepatic cytosolic GST, SOD, Catalase and GSH-Px activities in CCl₄ intoxicated rats

Experimental group	Dose (mg/kg, b.w, p.o)	GST	SOD	Catalase	GSH-Px
		(nmoles/mg protein/min)	(units/mg protein)	(moles/mg protein/min)	(nmoles NADPH/mg protein/min)
Normal	-	220.47±9.56 ¹⁾ (100) ²⁾	47.24±4.73(100)	859.84±93.88(100)	0.86±0.16(100)
CCl ₄ ³⁾	-	133.30±12.33 [#] (0)	75.68±6.82 [#] (0)	1295.22±74.11 ^{###} (0)	1.59±0.14 [#] (0)
Hexane fr. + CCl ₄	840	145.32±19.58(16)	71.63±4.39(14)	769.97±125.80*(121)	1.42±0.38(23)
CHCl ₃ fr. + CCl ₄	90	172.78±16.65(45)	54.21±5.17*(75)	586.20±45.81**(163)	0.97±0.13*(85)
EtOAc fr. + CCl ₄	300	148.48±21.69(21)	55.44±.74(71)	618.77±37.70**(155)	0.97±0.18*(85)
BuOH fr. + CCl ₄	510	172.59±15.28(45)	57.05±3.98*(66)	963.75±108.50*(76)	1.16±0.12*(59)
H ₂ O fr. + CCl ₄	1,260	166.58±18.98(44)	70.12±7.53(20)	950.32±125.15*(79)	1.36±0.10(32)

¹⁾Values are the mean±S.D.(n=7)

²⁾The values in parenthesis are relative percents. The % of protection is calculated as 100×(value of CCl₄-value of sample)/(value of CCl₄-value of normal). ^{#,##}Significantly different from normal at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test. ^{***}Significantly different from CCl₄ at p<0.05, p<0.01 by student's *t*-test.

³⁾CCl₄ 0.6 mg/kg, B.W. [CCl₄ : Olive oil = 3:2(v/v)] was i.p. injected one time after the sample pretreatment

생성된 친전자성 독성 물질에 glutathione의 thiol기를 포집 시켜서 독성물질을 전이 분해시키는 작용을 한다는 보고⁴⁸⁾에 따라 이들 분획물이 독성 물질을 glutathione에 포집시켜 배설을 촉진시킴으로써 사염화탄소에 의한 간손상을 보호하여 그 함량이 증가된 결과로 사료된다. SOD는 활성산소(O₂⁻)를 H₂O₂와 O₂로 전환시켜 활성 산소에 의해 생기는 산화적 손상의 일차적 방어에 관여하며 비정상적으로 증가된 활성산소를 제거하기 위해 그 활성도가 높아진다는 보고⁴⁹⁾에 따라 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 chloroform과 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 75%, 66%로 유의적인 감소를 나타내었다. 이는 이들 분획물들이 사염화탄소에 의해 생성된 활성산소(O₂⁻)를 억제할 수 있는 생리활성 물질이 함유되어 있는 것으로 사료된다. Catalase는 체내에서 지방의 자동산화, 유기물의 산화, superoxide dismutase에 의해 생성된 H₂O₂를 GSH-Px와 함께 O₂나 H₂O로 분해 배설시키는 산화 환원 효소의 하나⁵⁰⁾로, 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었으나 분획물을 각각 투여한 모든 군에서 유의적인 감소를 나타내었다. 특히 hexane, chloroform 및 ethylacetate 분획물을 각각 투여한 군에서 121%, 163%, 155%의 유의적인 감소로 정상군보다 더 낮은 활성치를 나타내었다. 이것은 이들 분획물이 사염화탄소에 의해 형성된 free radical의 생성을 억제시킨 결과로 사료된다. GSH-Px는 H₂O₂를 제거하면서 환원형 glutathione(GSH)을 산화형 glutathione(GSSG)으로 전환시키는 효소⁵¹⁾로써, 본 실험 결과 정상군과 비교하여 사염화탄소 단독 투여군에서 유의적인 증가를 나타내었다. 이는 사염화탄소의 투여로 다량의 H₂O₂가 생성되어 이를 분해하기 위하여 증

가한 것으로 사료된다. 그러나 chloroform, ethylacetate 및 butanol 분획물을 각각 투여한 군에서 85%, 85%, 59%로 유의적인 감소를 나타내었다. 이 결과는 이들 분획물이 H₂O₂의 생성을 억제시켜 GSH-Px의 활성을 감소시킨 결과로 사료된다.

결 론

어성초 메탄을 추출물이 사염화탄소로 유발된 혈청중의 간대사 효소의 활성저하를 나타내어 이를 hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 H₂O 용매로 분획한 후 혈청 및 간조직의 효소활성에 미치는 영향을 검토한 결과는 다음과 같았다.

1. 메탄을 추출물이 사염화탄소 투여로 간대사 기능의 지표가 되는 혈청중의 ALT, AST, AIP, γ -GT 및 LDH의 증가된 활성치를 감소시켰으며 특히 ALT, AIP 및 γ -GT 활성치는 유의적인 감소를 나타내었다.

2. butanol 분획물이 사염화탄소 투여로 높아진 혈청중의 ALT, AST, AIP, γ -GT 및 LDH 활성치와 TG 함량의 유의적인 감소를 나타내었으며, 간 조직중의 과산화지질 함량과 일차적인 항산화 효소인 SOD, Catalase, GSH-Px 활성의 유의적인 감소를 나타내었다. 또한 이차적인 항산화효소인 GSH 함량도 유의적인 증가를 나타내었으나 GST 활성은 유의적인 증가를 나타내지 못하였다.

이와 같은 결과로부터 어성초 메탄을 추출물의 butanol 분획물이 사염화탄소 투여에 의한 간세포의 괴사와 변성에 따른 free radical의 생성을 감소시켜 보호작용을 갖는 생리활성 물질을 함유하고 있음이 추정되며 앞으로 이 분획물을

더욱 분리하여 간손상에 따른 생리활성물질 구조의 규명과 반응 기전에 대한 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

사 사

본 논문은 2002학년도 대전대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구의 결과이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Neuzil, J., Gebick, J. and Stocker, R. (1993) Radical induced chain oxidation of proteins and its inhibition by chain breaking antioxidants. *Biochem. J.* **293**: 601-606.
- Steinberg, D., Pathasathly, S., Carew, T. E., Khoo, J. C. and Witztum, J. L. (1989) Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoproteins that increase its atherogenicity. *N. Engl. J. Med.* **320**: 915-923.
- Gary, W. Pace and Cynthia, D. Leaf (1995) The role of oxidative stress in HIV disease. free radical. *Biology and Medicine.* **19**: 523-528.
- Gilman, A. G. (1985) Carbon tetrachloride. *The Pharmacological basis of therapeutics* **7**: 1635-1636.
- Bruckner, J. V., Mackenzie, W. F. and Muralidhara, S. (1986) Oral toxicity of carbon tetrachloride : Acute, subacute and subchronic studies in rats. *Fund. Appl. Toxicology* **6**: 16-34.
- Butler, T. C. (1990) Reduction of carbon tetrachloride in vivo and reduction of carbon tetrachloride and chloroform in vitro by tissues and constituents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **134**: 311-319.
- Caragy, A. B. (1992) Cancer preventive foods and ingredients. *Food Technology* **46**: 65-68.
- Liang jun, Y., Marie, T. and Lester, P. (1995) Gingo bibba extract(EGb 761) protects human low density lipoproteins against oxidative modification mediated by copper. *Biochem. and Biophys. Res. Com.* **212**: 360-366.
- Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C. and Lee, B. Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**: 80-85.
- Middleton, E. (1996) Biological properties of plant flavonoids An Overview. *Int. J. Pharmacognosy* **34**: 344-348.
- B. K. Hwan (2000) The medical plants of korea p.160 *Kyohak* pub. co.
- Shanghai Science and Technological publisher(1985) The Dictionary of Chinese Drugs Vol. 1, *Shougakukan* Tokyo. p.507.
- Lee, Y. J., Shin, D. H., Jang, Y. S. and Shin, J. I. (1993): Antioxidative effects of fractions from sequential ethanol extracts of *Houttuynia cordata*, Portulacaceae and sesame cake. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **25**: 683-686.
- Hayashi, K., Kamiya, M. and Hayashi, T. (1995) Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus, and HIV. *Planta Med.* **61**: 237-241.
- Kim, S. K., Ryu S.Y., No, J., Choi, S. U. and Kim, Y. S(2001) Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. *Arch. Pharm. Res.* **24**: 518-521.
- Chang, V. S., Chiang, L. C., Chen, C. C., Liu, L. T., Wang, K. C. and Lin, C. C. (2001) Antileukemic activity of *Bidenspilosa L. var. minor(Blume) sherff* and *Houttuynia cordata Thunb.* *Am. J. Chin. Med.* **29**: 303-312.
- Chung, C. K., Ham, S. S., Lee, S. Y., Oh, D. H., Choi, S. Y., Kang I. J. and Nam, S. M. (1999) Effects of *Houttuynia cordata* ethanol extracts on serum lipids and antioxidant enzymes in rats fed high fat diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**: 205-211.
- Lee, J. H., Jeong, S. I., You, I. S., Kim, S. K., Lee, K. N., Han, D. S. and Baek, S. H. (2001) The inhibitory effects of the methanol extract of *Houttuynia cordata Thunb* against cadmium induced cytotoxicity(V). *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 61-67.
- Pak, J. C., Hur, J. M., Park, J. G., Park, S. J., Lee, J. H., Sung, N. J., Choi, M. R., Song, S. H., Kim, M. S. and Choi, J. W. (2000) The effects of *Houttuynia cordata* on the hepatic bromobenzene metabolizing enzyme system in rats and isolation of phenolic compounds. *Kor. J. Pharmacogn.* **31**: 228-234.
- Kim, K. Y., Chung, D. O. and Chung, H. J. (1997) Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata Thunb.* *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**: 400-406.
- Tutupalli, L. V. and Chaubal, M. G. (1975) Sauruaceae. V. composition of essential oil from foliage of *Houttuynia cordata* and chemosystematics of Saururaceae. *Lloydia* **38**: 92-96.
- Probstle, A., Neszmely, A., Jerkovich, G., Wagner, H. and Bauer, R. (1994) Novel pyridine and 1,4-dihydropyridine alkaloids from *Houttuynia cordata*. *Natural Products Letters* **4**: 235-240.
- Tagagi, S., Yamaki, M., Masuda, K. and Kuboda, M.(1978) On the constituents of the terrestrial part *Houttuynia cordata*. *Shoyakugaku Zasshi* **32**: 123-125.
- Probstle, A., Lotter, H., Wagner-Redecker, W., Mathiesen, U. and Bauer, R. (1993) Identification of lipophilic constituents with antiinflammatory activity from *Houttuynia cordata*. *planta Medica* **59**: 663-664.
- Rao, V. C. and Nehendale, H. M. (1991) Colchicine antimitosis abolishes CCl4 autoprotection. *Toxicol. Pathol.* **19**: 597-606.
- Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric method

- for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.* **28**: 58-61.
27. Kawano, S., Nakagawa, H. and Toga, H. (1982) Investigation on physiological values of blood in industrial workers, Report 3. Serum colloid reaction and enzyme activity values. *Sangyo Igaku* **24**: 275-283.
 28. Szaz, G. (1969) A kinetic photometric method for serum γ -glutamyltrans peptidase. *Chin. Chem.* **16**: 124-136.
 29. King, J. (1972) Effect of hydrogen ion concentration on lactate dehydrogenase(LDH)assays. *Clin. Chem.* **18**: 1443-1449.
 30. Belcher, J. D. and Egan, J. O. (1991) A microenzymatic method to measure cholesterol and triglyceride in lipoprotein subfractions separated by density gradient ultracentrifugation from 200 microliters of plasma or serum. *J. Lipid Res.* **32**: 359-370.
 31. Uchiyama, M. and Mihara, M. (1978) Determination of malondialdehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* **86**: 271-278.
 32. Ellman, G. L. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **82**: 70-77.
 33. Flohe, L., Wolfng, A. and Gunzler, W. A. (1984) Assay of glutathione peroxidase. In *Methods in enzymatic analysis*, New York, Academic Press, Inc. **105**: 114-121.
 34. Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. (1974) Glutathione S-transferase, The first enzymatic step in mercapturic acid reaction. *Anal. Biochem.* **249**: 7130-7139.
 35. Cropo, C. H., McCord, J. M. and Fridovich, E. (1978) Preparation and assay of superoxide dismutase. In *Methods in Enzymology*, Fleischer, S. and Packer, L.(eds.), Academic Press, New York **52**: 382-393.
 36. Aebi, H. (1974) Catalase. In *Methods of enzymatic analysis*, Vergmeyer, H. U. (ed.), Academic Press. New York **2**: 673-698.
 37. Lowry, O. H., Rosebrough, N., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
 38. Hayes, A. W. (1982) Principles and methods of toxicology. *Raben Press*, New York p407-445
 39. Hofmann, A. F. and Popper, H. (1987) Ursodeoxycholic acid for primary biliary cirrhosis. *Lancet* **2**: 398-402
 40. Whitfield, J. B., Pounder, R. E., Neale, G. and Moss, D. W. (1972) Serum γ -glutamyl transpeptidase activity in liver disease. *Gut* **13**: 702-708
 41. Curtis, M. T., Gilfor, D. and Farber, J. L. (1984) Lipid peroxidation increased the molecular order of microsomal membranes. *Arch. Biochem. Biophys.* **235**: 644-651.
 42. Takeda, S., Funo, S., Iizuka, A., Kase, Y., Arai, I., Ohkura, Y., Sudo, K., Kiuchi, N., Yoshida, C., Maeda, S., Abrada, M. and Hosoya, E. (1985) Pharmacological studies on schizandra fruits. III. Effects of wuweizisu C, aligan component of schixanda fruits, on experimental liver injuries in rats. *Folia Pharmacol. japon.* **85**: 194-208.
 43. Noll, T. and Groot, H. (1984) The critical steady state hypoxic conditions in carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta.* **795**: 356-362.
 44. Kim, H. C. and Hur, I. H. (1990) Antioxidant action of malotilate on prolonged hepatic injury induced by carbon tetrachloride alone or in combination with ethanol in rat. *Yakhak Hoeji* **34**: 267-276.
 45. Lim, H. K., Kim, H. S., Choi, H. S. and Choi, J. W.(1999) Protective and therapeutic effects of *Malloti Cortex* extract on carbon tetrachloride and galactosamine induced hepatotoxicity in rats. *The Journal of Applied Pharmacology* **7**: 35-43.
 46. Cohen, G. M. and Freedom, R. B. (1982) Roles and functions of glutathione. *Biochem. Soc. Trans.* **10**: 78-85
 47. Meister, A. (1983) Selective modification of glutathione metabolism. *Science* **220**: 472-477.
 48. Vos, R. M. and Van Bladern, P. J. (1990) Glutathione S-transferase in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. *Chem. Biol. Interact.* **75**: 241-265.
 49. Crapo, H. C., McCord, M. J. and Fridovich, I. (1978) Preparation and assay of superoxide dismutase. In *Methods in enzymology*, Fleischer, S. and Packer, I. (eds.), Academic Press, New York **52**: 382-393.
 50. Deisseroth, A. and Dounce, A. L. (1970) Catalase physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. *Physiol. Rev.* **50**: 3-24.
 51. Jones, D. P., Eklow, L., Thor, H. and Orrenius, S. (1981) Metabolism of hydrogen peroxide in isolated hepatocytes relative contributions of catalase and glutathione peroxidase in decomposition of endogenously generated H₂O₂. *Arch. Biochem. Biophys.* **210**: 505-516.

(2002년 8월 8일 접수)