

# 소목 추출물의 항산화 및 간보호작용

하 현

대구산업정보대학 식품가공과

## Antioxidant and Liver-protective Effects of *Caesalpinia sappan*

Hun Ha

Dept of Food Science and Technology, Taegu Polytechnic College, Taegu, Korea

### ABSTRACT

The heartwood of *Caesalpinia sappan* L. (Leguminosae) has been used to activate blood flow, remove blood stasis, reduce swelling and relieve pain in Korean folk medicine. In this study, the antioxidant effects of this crude drug and its hepatoprotective activity on CCl<sub>4</sub>-induced liver injury in rats were evaluated. The levels of antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) reduced by CCl<sub>4</sub> treatment, were recovered by this crude drug. It is suggested that *Caesalpinia sappan* L. have antioxidant effect. The increased levels of glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic pyruvic transaminase (GPT) by CCl<sub>4</sub> were also recovered by treatment with this crude drug. These results can be attributed to the agent's antioxidant and membrane-stabilizing actions.

**Key words :** *Caesalpinia sappan* L., CCl<sub>4</sub>, GOT, GPT, Superoxide dismutase, Catalase

### 서 론

소목(蘇木, *Caesalpinia sappan*)은 Leguminosae에 속한 낙엽관목의 건조한 심재(心材)이며, 한방에서는 활혈거어약(活血祛瘀藥)(大韓藥師會, 1995)으로 혈액응고촉진작용, 중추신경억제작용(Nagai *et al.*, 1986), 항균작용, 혈관완화작용(Xie *et al.*, 2000), 80% MeOH 추출액의 항경련작용(Baek *et al.*, 2000), *in vitro*에서 소목에서 분리된 성분의 항보체효과(Oh *et al.*, 1998) 등이 알려져 있다.

SOD는 superoxide radical을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 전환시켜 제거시키는 효소로 그 활성이 억제되면 지질과산

화가 점진적으로 개시되어 세포막이 손상되고, 이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 catalase에 의해 물로 전환되므로 산화적 스트레스에 중요한 요소가 된다(Klaunig *et al.*, 1998)고 한다.

본 실험에서는 천연물 중 항산화효과가 기대되는 소목의 추출물을 실험동물에 투여하여, 항산화 효과와 동시에 급성 간손상에 대한 회복효과를 관찰하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 시 료

대구 약령시장에서 구입한 소목을 음건후, 세절하여 환류 냉각기를 장치하여 수욕 상에서 증류수

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-53-749-7162, E-mail: hunha@mail.tpic.ac.kr

1000 ml를 가해 3시간씩 3회 추출한 후, 은시 여과하고 여액을 모아 100 ml로 감압 농축하였다.

## 2. 실험동물

실험동물은 효창사이언스에서 4주령의 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐 (200~250 g)를 4주 동안 적응 사육시킨 후, 실험에 사용하였다. 적응 사육시에 식이와 식수는 제한하지 않았고, 삼양사의 고형사료를 사용하였다.

실험군은 대조군, CCl<sub>4</sub> 투여군, 소목+CCl<sub>4</sub> 투여군의 3군으로 나누었다. 소목 추출물을 실험동물 체중 100 g당 0.1 g씩 2주간 동안 경구투여한 후, CCl<sub>4</sub>와 Olive oil의 1:1 혼액을 실험동물 체중 100 g당 0.1 ml씩 1일 1회 3일간 복강내 주사하여 간손상을 유도하였다.

## 3. 효소활성 측정

약물 투여후 12시간 절식시킨 흰쥐를 ether로 마취시켜 개복하고, 복부 대동맥으로부터 채혈하였다. 채혈한 혈액은 실온에서 약 1시간 방치 후 원심분리 (3,000 rpm, 30 min.)하고 혈청을 분리한 후 효소활성도 측정에 사용하였다.

Glutamic oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic pyruvic transaminase (GPT) 활성은 혈청 transaminase 측정용 kit (아산제약주식회사, 한국)를 사용하여 Reitman-Frankel법에 의하여 측정하였다. 그리고 GOT, GPT의 활성도는 표준곡선에 의해 활성치를 계산하여, 혈청 1 ml당 Karmen unit (KU)로 표기하였다.

SOD의 활성 측정은 alkali 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund (1974)의 방법으로 측정하였다. SOD의 Cu-Zn과 Mn-isozyme 사이에는 별다른 차이점이 없었다. 일정량의 시료에 tris-HCl buffer (pH 8.2)와 pyrogallol (10 mM)을 가하고, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성단위는 pyrogallol의 산화를 50% 억제하는데 필요한 양으로 나타내었다.

Cohen 등 (1970)의 방법에 따라 CAT의 활성을 측정하였는데, CAT와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와의 반응 이후에 KMnO<sub>4</sub>로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (6 mM)를 적정하여 340 nm에서 측정하였다. CAT 활성단위는 KMnO<sub>4</sub>의 정색변화를 50% 감소시키는데, 필요한 효소의 양으로 정하였다.

측정 기기는 일본 Hitachi사의 736-40 UV-visible spectrophotometer를 사용하였다. 단백질 정량은 Lowry (1951) 방법으로 행하였다.

## 4. 통계처리

실험 성적은 mean±S.D.로 표시하였고, 각 군간의 통계적 유의성은 Student t-test에 준하여 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. Transaminase 활성에 대한 소목의 효과

CCl<sub>4</sub>는 cytochrome P-450에 의해서 생성하는 free radical인 ·CCl<sub>3</sub>가 반응성이 많은 활성물질로 변화되어, 간지질의 구성 불포화 지방산을 radical화하고, 과산화물 생성을 촉진하므로 지방변성을 일으켜 간손상을 유발한다 (Recknagel RO and Glende EA Jr, 1973)고 한다.

실험적 간장해가 유도된 흰쥐의 혈청 GOT 활성도에 미치는 소목의 효과는 Table 1에 나타난 바와 같다. CCl<sub>4</sub>투여로 GOT 활성도는 909±112 KU로, GPT 활성도는 161±17 KU로 간손상이 현저한 것으로 나타났다. CCl<sub>4</sub>로 증가한 활성도는 소목의 처리로 크게 감소하였는데, 각각 127±21.6 KU, 38.5±9.3 KU로 큰 활성도 감소를 보여, 소목이 간독성의 발현을 저해하는 것으로 나타났다.

### 2. Superoxide dismutase 및 Catalase 활성에 대한 소목의 효과

과산화물을 제거하는 기능을 가진 SOD와 CAT는 산화적 스트레스를 방어하는데 주요한 역할을 한다. 이들 효소의 활성감소는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 생성

Table 1. Effect of *Caesalpinia sappan* on plasma GOT and GPT activity in CCl<sub>4</sub>-treated rat

Groups	Rats (n)	GOT (KU)	GPT (KU)
Control	10	18±1.3	7.3±1.3
CCl <sub>4</sub>	13	909±12**	161±17**
SC*+CCl <sub>4</sub>	13	127±21.6	38.5±9.3

The values are the mean±S.D. of number of rats indicated.

\*: *Caesalpinia sappan* \*\*:  $p < 0.05$

하게 되는데, 차례로 수산기를 만들고 세포막에 심각한 여러 가지 반응을 일으킨다.

소목 추출물이 대표적 항산화 효소인 SOD와 CAT에 대한 활성 변화를 Table 2에 나타내었다.

SOD 활성변화를 관찰하면 정상 대조군(21.3 ± 1.4 units/mg protein)에 비해, CCl<sub>4</sub>로 실험적 지질산화를 일으킨 군은 13.8 ± 1.1 units/mg protein이었으며, 소목투여군은 18.4 ± 0.9 units/mg protein으로 거의 정상 대조군 수준으로 유의성(p < 0.05)있는 회복을 나타냈다.

CAT 활성은 정상 대조군에서 1.32 ± 0.07 units/mg protein이고, CCl<sub>4</sub> 투여로 0.73 ± 0.02 units/mg protein로 소목과 CCl<sub>4</sub> 혼합투여군에서는 1.27 ± 0.05 units/mg protein으로 결과를 나타내었다.

생체에는 산화적 스트레스로부터 자신을 보호하기 위해 free radical을 제거할 수 있는 항산화 효소

제가 존재하는데, 노화가 진행됨에 따라 이 기능이 감소한다(Das *et al.*, 2000)고 한다.

본 연구와 유사한 것으로는 Lin *et al.* (2000)은 가시오가피(*Acatopanax senticosus*)의 항산화 효과와 동시에 간기능 회복능을 보고하고 있다. 또 silymarine의 항산화작용과 세포막 안정화작용이 간섬유화에 효과가 있다(Mourelle *et al.*, 1989)고 보고되고 있다. 또한 간장해에서 간세포의 손상은 산소 자유기의 직접적인 공격에 기인한다(Nadkarni GD and D'Souza NB, 1998)는 보고도 있다.

### 결 론

흰쥐에 CCl<sub>4</sub>를 투여하여 일으킨 실험적 간장해에 한방에서 활혈거어약(活血祛瘀藥)으로 유용하게 사용되고 있는 소목 열수 추출물을 투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

CCl<sub>4</sub> 투여로 증가된 혈청 GOT와 GPT 효소 활성이 소목 추출물의 처리로 유의성 있게 회복하였다.

대표적 항산화 효소인 SOD와 CAT의 활성도 실험적 간장해 유도 물질인 CCl<sub>4</sub>투여로 감소되었다가 소목의 투여로 유의성 있는 회복을 보였다. 이러한 결과를 종합해 볼 때, 소목 추출물이 지질 과산화를 억제하고 세포의 항산화계를 자극함으로써 CCl<sub>4</sub>에 의한 간손상을 방어할 수 있으리라 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 2001년도 대구산업정보대학 교비 연구조성비에 의한 것이며, 이에 감사 드립니다.

### 참 고 문 헌

本草學, 大韓藥師會, 1995, 529.  
 Back NI, Jeon SG, Ahn EM, Hahn JT, Bahn JH, Jang JS, Cho SW, Park JK, Choi and SY. Anticonvulsant compounds from the wood of *Caesalpinia sappan* L. Arch. Pharm. Res. 2000; 23(4) : 344-348.  
 Cohen GD, Demblich and Marcus. Measurement of catalase activity in tissue extracts. Anal. Biochem. 1970; 34 : 30.

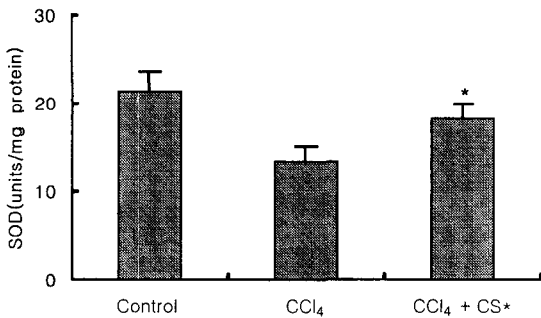


Fig. 1. Effect of *Caesalpinia sappan* on SOD activity in CCl<sub>4</sub> treated rats. Each values represent the mean ± S.D. \*p < 0.05

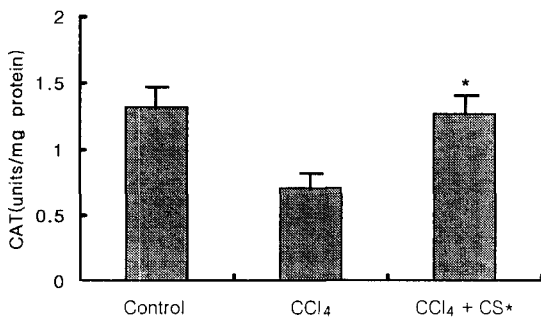


Fig. 2. Effect of *Caesalpinia sappan* on CAT activity in CCl<sub>4</sub> treated rats. Each values represent the mean ± S.D. \*p < 0.05

- Das D, Pemberton PW, Burrows PC, Gordon C, Smith A, McMahon RF and Warnes TW. Antioxidant properties of colchicine in acute carbon tetrachloride induced rat liver injury and its role in the resolution of established cirrhosis. *Biochim. Biophys. Acta.* 2000; 15; 1502(3) : 351-362.
- Klaunig JE, Xu Y, Isenberg JS, Bachowski S, Kolaja KL, Jiang J, Stevenson DE and Walborg EF Jr. The role of oxidative stress in chemical carcinogenesis. *Environ. Health Perspect.* 1998; 106(1) : 289-295.
- Lin CC, Huang PC and Lin JM. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Anoectochilus formosanus* and *Gynostemma pentaphyllum*. *Am. J. Chin. Med.* 2000; 28(1) : 87-96.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. chem.* 1951; 193 : 265.
- Marklund S and Marklund. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.*, 1974; 47 : 469.
- Mourelle M, Muriel P, Favari L and Franco T. Prevention of  $\text{CCl}_4$ -induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundam Clin Pharmacol.* 1989; 3(3) : 183-191.
- Nadkarni GD and D'Souza NB. Hepatic antioxidant enzymes and lipid peroxidation in carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rats. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1988; 40(1) : 42-45.
- Nagai M, Nagumo S, Lee SM, Eguchi I and Kawai KI. Protosappanin A, A novel biphenyl compound from *Caesalpinia sappan* lignum. *Chem. Pharm. Bull.* 1986; 34(1-6).
- Oh SR, Kim DS, Lee IS, Jung KY, Lee JJ and Lee HK. Anticomplementary activity of constituents from the heartwood of *Caesalpinia sappan*. *Planta. Med.* 1998; 64(5) : 456-458.
- Recknagel RO and Glende EA Jr. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: an example of lethal cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* 1973; 2(3) : 263-297.
- Xie YW, Ming DS, Xu HX, Dong H and But PP. Vasorelaxing effects of *Caesalpinia sappan* involvement of endogenous nitric oxide. *Life Sci.* 2000; 1; 67(15) : 1913-1918.