간독성과 병리학적인 면에서 노두 사포닌의 효과

하배진*

신라대학교 생명공학전공

Received November 28, 2005 / Accepted January 10, 2006

Effects of *Rhynchosia molubilis* Saponin on Hepatotoxicity and Pathology. Bae Jin Ha*. *Department of Bioscience and Biotechnology, Silla University, Busan 617-736, Korea* – This study was carried out to investigate the effects of *Rhynchosia molubilis* saponin on carbon tetrachloride (CCl_4)-induced hepatotoxicity. Sprague-Dawley rats were intraperitoneally administered the *Rhynchosia molubilis* saponin at 100 mg/kg every day for two weeks, then CCl_4 (3.3 ml/kg) was injected into rats. 12 hours later, they were anesthesized with ether and dissected. *Rhynchosia molubilis* saponin-administered group showed 59.92% and 62.28% of inhibitory effects on aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities compared to CCl_4-treated group ($p<0.05$). Malonedialdehyde (MDA) levels of *Rhynchosia molubilis* Saponin-administered and CCl_4-treated (RSC) group in liver homogenate and mitochondria were significantly inhibited to 61.83%, 81.11%, respectively, compared to CCl_4-treated group ($p<0.05$). Superoxide dismutase (SOD) activities of RSC group in liver homogenate and mitochondria were significantly inhibited to 66.53%, 31.04%, respectively, compared to CCl_4-treated group ($p<0.05$). GPx activities of RSC group in liver homogenate and mitochondria were significantly inhibited to 72.74%, 72.68%, respectively, compared to CCl_4-treated group ($p<0.05$). The histological examinations showed that the liver cell necrosis and centrilobular congestion aggregation induced by CCl_4 were clearly eliminated by the administration of *Rhynchosia molubilis* saponin. These results suggest that *Rhynchosia molubilis* saponin could have the protective effects against hepatotoxicity.

Key words – *Rhynchosia molubilis* saponin, CCl_4, antioxidant enzyme, lipid peroxidation

노두(*Rhynchosia molubilis*)는 서목태, 약콩, 다원콩, 또는 쥐눈이콩 등의 이름으로 명명되기도 하는데, 7월에 꽃이 피어 타원형의 깍지속에 지름 5-7 mm 정도의 크기이다. 신약본초에서는 해독성이 강하여 청혈작용이 있고 신체 기능을 강화하는 약제로 보고되어 있으며, 본초강목에서도 삶은 콩의 즙은 약의 독을 풀고 신장병을 다스리는 것으로 보고되어 있다. 이와 같이 노두는 한방 및 민간요법에서 약제로 사용되어 왔으며, 골질환 예방 및 치료에도 널리 사용되어 왔다[8].

노두의 여러 기능성 성분들 중 항산화성 물질로서 tocopherol, flavonoids, isoflavone과 그 유도체, 인지질, 아미노산, 펩티드 등이 다량 함유되어 있으며, 항산화 효과의 원인 물질인 saponin 또한 다량 함유되어 있다. 노두의 색소는 anthocyan 계통의 색으로 알려져 있으며, anthocyan계 색소의 항산화 효소가 검은쌀, 검정콩에서 보고된바 있다[1]. Saponin은 몸 안에서 DDMP (2,3-dihydro-2,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4one)라는 물질을 만들어 활성 산소와 반응하고, superoxide dismutase (SOD)와 같이 몸 안의 독성 산소 물질을 억제하여 세포의 산화를 막을 수 있다[4].

인체는 독성 물질과 접하게 되었을때 이에 적응하여 생존할 수 있도록 방어기전을 가지고 있다. 생체내의 생리적 방어기전에 관여하는 약물의 생화학적 변형은 주로 간에서 이루어지고 있으며 그 외 신장, 폐, 위장 및 결장 내에서도 일부 이루어진다.

간세포는 독성 유발 물질로 알려진 CCl_4[15,20]에 의해 간세포내의 endoplasmic reticulum 과 mitochondria 막의 투과성이 변화되어 효소의 활성 및 변성을 초래한다[17]. 이는 주로 cytochrome P450에 의해 생성되는 매우 반응성이 큰 toxic free radical인 $CCl_3\cdot$에 기인하며 이 radicals 는 polyunsaturated fatty acid와 반응하여 간세포에 lipid peroxidation을 일으키거나 세포내의 단백질, 지질등과 같은 macromolecule들과 결합하여 간세포 괴사를 야기시킨다. 또한, 이런 radicals는 microsome 지질의 불포화 지방산 측쇄의 methylene 결합을 공격하여 약물대사 효소 활성과 단백질 활성을 저하시키고 간에서의 급성 지방 변성을 일으키며 lipoprotein의 생성과 유리를 차단하여 급속한 지방축적을 야기한다[9].

본 실험실에서 DPPH free radical 소거 실험을 한 결과 노두 사포닌이 free radical 소거능이 있음이 나타났다(IC_{50}= 150 μg/ml). 따라서, 본 연구에서는 *in vivo* 실험을 통하여 CCl_4로 산화적 손상을 통한 간손상 rat에서 노두 사포닌의 간조직 보호 증대 효과를 확인하여 간질환 치료 유효 성분 규명을 위한 기초적 정보를 얻고자 한다.

*Corresponding author
Tel : +82-51-999-5466, Fax : +82-51-999-5684
E-mail : bjha@silla.ac.kr

재료 및 방법

재료

노두 분말 100 g에 70% ethanol 1 L를 가하고 70℃에서 4시간씩 3회 추출하고 원심 분리하여 (3,000 rpm, 10 min) 하여 그 상등액을 70℃ 이하에서 감압 농축하였다. 3배량의 diethyl ether와 5배의 증류수로 3회 분획 추출하여 ether 층으로 이행되는 지용성물질을 제거하고 물층에 동량의 n-butanol을 가하였다. 이 조작을 2회 반복하고 100 ml 의 증류수로 4회 세척한 후 70℃에서 감압 농축하여 동결 건조하여 시료로 사용하였다.

실험동물 및 식이

실험동물은 체중 150 g 내외의 Sprague-Dawley female을 대구 효창 사이언스로부터 제공받았고 7일 동안 적응시켰다. 실험동물은 난괴법(randomized complete block design)에 의해서 7마리씩 4군으로 나누어 cage에 각각 분리시키고 사육실 온도는 22±1℃의 온도와 60±5℃ 상대습도로 유지시켰다. 사육기간 중 고형사료와 물은 자유로이 섭취시켰으며, 사료의 조성은 Table 1 과 같다.

총 28마리의 rat를 7마리씩 4군으로 나누었다(Table 2). Normal Control(NC)군과 CCl_4 처리군(CCl_4)은 0.9% saline을, 노두사포닌(RS) 군과 노두사포닌 CCl_4 처리군(RSC)군은 노두 사포닌 100 mg/kg을 복강 내에 2주간 매일 투여했다. CCl_4 군과 RSC 군에서 실험동물의 간 손상의 유도를 위해 사염화탄소를 olive oil에 1:1 비율로 용해시켜 3.3 ml/kg의 용량을 희생하기 24시간 전에 복강 내로 투여하여 각각 간 독성을 유발시켰다. 그 후 10시간 절식 후 혈액과 간을 채취하여 실험에 임하였다.

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredients	Experimental diets (g/100g diet)
Corn starch	59.5
Casein	22.0
L-Methionine	0.3
Cellulose	4.5
Corn oil	5.0
Ash	8.0
Calcium	0.6
Phosphate	0.4

혈액 및 간 채취

실험 종료 후 실험동물을 ether 마취 하에서 개복한 후 심장에서 채혈하여 실온에서 30분 간 방치한 후, 3000 rpm, 4℃에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 분리하여 -70℃ deep freezer에 보관하여 실험에 사용하였고, 간은 적출하여 0.9% 생리 식염수로 세척하여 여지로 흡착한 후 -70℃ deep freezer에 보관하여 실험에 사용하였다.

간에 10배 양의 solution (10 mM Tris, 0.07 M saccharose, 0.1 mM EDTA, 0.2 M mannitol, in dissolved 0.1 N HCl)을 넣어 균질화한 후, 600 g, 4℃에서 10 min 원심분리한 상등액을 다시 8,000 g, 4℃에서 10 min 원심분리하여 얻은 pellet에 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 5 ml 넣어 mitochondiral fraction으로 사용하였다.

혈청의 효소 활성 측정

혈청 중의 aspartate aminotransferase (AST) 와 alanine aminotransferase (ALT) 활성을 측정하여 간독성을 평가하였다. AST와 ALT의 활성은 Fuji Dri-Chem Clinical Chemistry Analyzer (Fuji Dri-Chem 3500, Fujifilm)로 측정하였다.

간 조직의 단백질 정량

단백질 정량은 간 1 g을 취하여 간 무게의 5배 용량인 5 ml의 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4)에 homogenation 시킨 것과 mitochondrial fraction을 시료로 하며, Lowry법 [12]에 의해서 실험하였다. 증류수 4 ml과 시료 20 μl 혼합액 중 1 ml을 튜브에 넣고 5 ml의 alkaline solution (100

Table 2. Experimental design of CCl_4-treated rats

Experimental group	1st ~ 14th	15th
	Injection sample (mg/kg, day)	Injection of damage sample (ml/kg, day)
NC(7)	0.9% saline	Olive oil
RS(7)	100 mg/kg of *Rhynchosia molubilis* saponin in 0.9% saline	
CCl_4(7)	0.9% saline	3.3 ml/kg of CCl_4
RSC(7)	100 mg/kg of *Rhynchosia molubilis* saponin in 0.9% saline	

NC : Negative control group
RS : *Rhynchosia molubilis* saponin group
CCl_4 : CCl_4-treated group
RSC : *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group

ml Na_2CO_3 solution 과 2 ml의 $CuSO_4$ · Na-K tartrate)을 가한 후 10분간 반응시킨다. 여기에 0.5 ml의 Foline 시약을 넣고 20분간 반응시킨다. 750 nm에서 흡광도를 측정하고 표준 단백 시료를 bovine serum albumin (BSA) 으로 하여 같은 방법으로 측정하여 단백질량을 정량하였다.

간 조직의 malonedialdehyde (MDA) 정량

과산화지질 정량은 간 1 g을 취하여 간 무게의 5배 용량인 5 ml의 0.05 M phosphate buffer (pH 7.4) 에 homogenation 시켜 마개가 있는 시험관에 0.5 ml씩 triple로 취하였다. Thiobarbituruce acid법[13]으로 7% sodium dodesyl sulfate (SDS)로 가용화시켜 여기에 0.67% TBA (동량의 acetic acid 혼합시약) 2 ml를 가하여 95℃ 수욕상에서 50분간 가온 후 즉시 급냉시켜 butanol 5 ml로 3000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상등액을 취한 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

간 조직의 superoxide dismutase (SOD) 효소활성 측정

SOD 활성 측정은 간 1 g을 취하여 간 무게의 5배 용량인 5 ml의 0.2 M phosphate buffer (pH 7.4)에 homogenation 시킨 것과 mitochondrial fraction을 시료로 Beauchamp와 Fridovich의 방법[2]에 따라 실시하였다. 0.2 M phosphate buffer (pH 7.4) 672 µl 1 mM xanthine 100 µl, 1% sodiume deoxychlorate 30 µl, 1.5 mM KCN 30 µl, 0.2 mM cytochrome C 150 µl를 넣은 mixture에 sample 8 µl를 넣고, xanthine oxidase 원액을 10 µl를 넣어 mixing한 후 ELISA reader를 이용하여 550 nm에서의 흡광도 변화를 2분 동안 측정하였다. 시료의 효소 활성도를 알아보기 위한 표준액으로서는 Sigma사의 superoxide dismutase standard를 사용하였다.

간 조직의 GSH-peroxidase (GPx)의 효소활성 측정

GPx 활성 측정은 간 1 g을 취하여 간 무게의 5배 용량인 5 ml의 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)에 homogenation 시킨 것과 mitochondrial fraction을 시료로 Lawrence의 방법[10]에 따라 실시하였다. 0.1 M phosphate buffer (4 mM EDTA) 400 µl, 0.01 M NaN_3 70 µl, 0.01 M GSH 70 µl, 1.5 mM NADPH 70 µl, H_2O 360 µl, GSSG-reductase (1.8 U/ml) 20 µl, sample 10 µl 를 혼합하여 상온에서 1분간 방치한 후 5 mM H_2O_2 100 µl를 가해 잘 섞은 후 340 nm에서 1분 30초 동안 흡광도 감소 측정을 하였다.

간 조직의 병리학적 측정

간 조직을 10% formaldehyde solution (dissolved in phosphate buffer pH 7.4)으로 하루 정도 고정시킨 후, 70% alcohol에서 100% alcohol까지 순차적으로 탈수하였다. 100% xylene 처리 후, paraffin으로 포매하고 microtome을 이용하여 5 ㎛의 조직 절편을 제작 하였다. 일반적인 염색방법인 hematoxylin-eosin (H&E) 으로 염색한 후, 광학현미경으로 관찰하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 Sigma Stat 3.1로 One Way ANOVA를 이용하여 검정하였다.

결과 및 고찰

혈청의 AST 및 ALT의 활성도 변화

간은 효소의 농도가 현저하게 높고 혈중으로 유출이 쉬운 혈행구조를 가지고 있으므로 손상된 간으로부터 혈액에 방출되는 간의 효소활성도 측정은 간독성 연구에 있어서 가장 유용한 방법 중의 하나로 특히 혈청 중 AST와 ALT 등의 효소는 간독성으로 인한 간세포 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내게 된다[5]. CCl_4는 cytochrome P450에 의해 독성이 강한 대사물로 되며 이 대사물이 간 microsome의 막단백 thiol 기와 강하게 결합하며 막의 지질과산화 반응을 촉진하여 장애를 일으켜서 간에서의 단백합성을 억제하고 혈중에서 AST 및 ALT 등의 이탈을 일으키는 것으로 알려져 있다[14,16].

CCl_4로 간독성을 유도한 쥐의 AST와 ALT에 대한 노두사포닌의 효과를 Table 3에 나타내었다. AST의 활성도는 NC군에 비해서 CCl_4군이 현저히 높게 나타났으며, RSC군은 CCl_4군 보다 48.60% 감소하였다. ALT 활성도 변화는 NC군이 CCl_4군에 비해 낮게 나타났으며, RSC군은 CCl_4군보다 42.59% 감소하였으며, 노두 사포닌만 투여한 RS 군에서는 혈중 AST, ALT의 활성에는 별다른 영향이 없었다.

CCl_4에 의하여 증가된 AST, ALT 활성도는 RSC 군에서 59.92%와 62.28%의 유의적인 감소를 보였다. 이는 노두 사포닌

Table 3. Effect of *Rhynchosia molubilis* saponin on ASL and ALT values in rat serum

Experimental group	AST (U/L)	ALT (U/L)
NC	71.75± 12.14	37.00± 2.83
RS	71.50± 9.04	20.33± 1.15
CCl_4	504.67±118.14	472.8 ±41.47
RSC	245.26± 38.94*	201.37±39.06*

NC : Negative control group
RS : *Rhynchosia molubilis* saponin group
CCl_4 : CCl_4-treated group
RSC : *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group
Significantly different from the value of CCl_4 group at *$p<0.05$.

Table 4. MDA levels in liver total homogenate and mitochondrial fraction of CCl_4 treated rat

Experimental group	Total homogenate (nmol/mg protein)		Mitochondrial fraction (nmol/mg protein)	
	MDA contents	Inhibition (%)	MDA contents	Inhibition (%)
NC	7.13±0.63	-	4.12±0.71	-
RS	7.92±0.71	-	3.98±0.94	-
CCl_4	22.22±1.69	-	15.66±0.99	81.11
RSC	12.89±0.51*	61.83	6.30±0.43*	

NC : Negative control group
RS : *Rhynchosia molubilis* saponin group
CCl_4 : CCl_4-treated group
RSC : *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group
Inhibition (%)= (CCl_4- RSC)/(CCl_4-NC)
Significantly different from the value of CCl_4 group at *p<0.05.

이 혈청 중에 유리된 transaminase 활성을 억제함으로써 간세포의 괴사를 억제한 것으로 보인다.

간 조직의 malonedialdehyde (MDA) 측정

세포막 인지질은 지질과산화의 과정에서 free radical의 공격에 의해서 oxygen centered lipid peroxyl radical을 거쳐 carbon centered lipid endoperoxide radical로 된 후 분해되어 MDA를 생성하게 되므로 MDA 함량은 지질과산화의 정도를 측정하는 지표가 된다[15,11].

MDA는 발암의 가능성이 있고, 돌연변이를 일으킬 수 있으며[18] 고도로 반응성이 높은 free radical들은 여러 가지 세포의 중요한 구성 성분들, 즉 지방 세포막, DNA, 단백질 등을 변형시키는 것으로 알려져 있다[7].

CCl_4로 간독성을 유도한 쥐로부터 간과 미토콘드리아 조직의 MDA의 함량을 Table 4에 나타내었다. Liver homogenate의 MDA 활성도는 NC군에 비해서 CCl_4군이 현저히 높게 나타났다. RSC군은 CCl_4군의 58.01%로 감소하였다. Mitochondria의 MDA 활성도 변화는 NC군이 CCl_4군에 비해 낮게 나타났다. RSC군은 CCl_4군의 40.23%로 감소하였다.

CCl_4에 의하여 증가된 MDA는 RSC군에서 liver homogenate에서 61.83%의 저해 효과가 있었으며, mitochondria fraction에서도 81.11%로 유의적인 감소를 보였다. RSC군에서 MDA 함량 감소는 노두 사포닌이 지질과산화를 억제 한 것으로 사료된다.

간 조직 중의 superoxide dismutase (SOD) 효소활성 측정

Free radical은 간조직이나 심장 근육 및 혈청에서의 지질과산화값을 높여 뇌졸증이나 심근경색과 같은 심혈관계 질환 및 전진적인 세포손상을 초래하여 세포노화를 촉진시키고 동맥경화증, 퇴행성 관절염, 암 등의 발생에도 관련이 깊다고 볼 수 있다[6,20]. 생체에는 이러한 free radical을 제거해주는 제거기전(scavenging system)이 있다. SOD, catalase, glutathion peroxidase와 같은 효소적 방어계[3]와 비타민 A, C, E, selenium (Se)과 같은 비효소적 방어계가 있어 생체를 과산화로부터 보호하고 있다. 그러나 이러한 free radical 제거계의 활성이 저하되거나 혹은 free radical 생성계의 촉진 등으로 이들 간에 균형이 깨어졌을 때 조직의 과산화적 손상은 더욱 촉진되어진다.

SOD는 세포내에서 정상적인 대사과정에서 생성된 superoxide anione radical에 의해 생기는 산화적 손상에 대한 세포내 방어기전에서 일차적으로 관여하는 효소로 알려져 있다. 즉, SOD는 두 개의 superoxide anione radical을 hydrogen peroxide와 산소로 전환시키는데 촉매작용을 한다[21,22].

CCl_4로 간독성을 유도한 쥐로부터 간과 미토콘드리아 조직의 SOD의 함량을 Table 5에 나타내었다. SOD 활성이 CCl_4 군과 비교하여 RSC군에서 간의 total homogenate에서는 44.69%로, mitochondria fraction에서는 20.38%로 증가하였으며, 각각 66.53%와 31.04%로 억제 효과가 있었다. RS군에서는 NC군 보다 liver homogenate에서는 약 1.12배 증가하였고, mitochondri fraction에서는 NC군에 비해 1.14배 증가하였다.

Table 5. The activity of SOD in liver total homogenate and mitochondrial fraction of CCl_4 treated rat

Experimental group	Total homogenate (U/mg protein)	Mitochondrial fraction (U/mg protein)
NC	17.62±0.48	24.63±0.81
RS	19.75±0.78	28.06±0.38
CCl_4	10.54±0.28	14.87±0.32
RSC	15.25±1.50*	17.90±0.06*

NC : Negative control group
RS : *Rhynchosia molubilis* saponin group
CCl_4 : CCl_4-treated group
RSC : *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group
Significantly different from the value of CCl_4 group at *p<0.05.

RSC군에서 MDA 함량은 감소되었고 SOD 활성도는 유의적인 증가를 보여 지질과산화물의 억제 효과를 나타냈다.

간 조직 중의 glutathione peroxidase (GPx) 효소활성 측정

Glutathione은 aerobic life에서 유독한 부산물인 hydrogen peroxide와 organic peroxide와 함께 반응함으로써 해독 작용에서 중요한 역할을 수행한다. 이 반응에서 촉매 효소인 glutathione peroxidase는 selenium 원자에 부착되어 공유적으로 결합하는 것이 주목된다[18].

위의 결과에서 SOD 활성이 증가한다는 것은 SOD의 생성물인 H_2O_2가 생긴다는 것을 의미하므로 연이어 H_2O_2의 전화효소인 GPx의 활성의 변화가 수반 될 수 있다고 보여진다. Table 6에서 보면 GPx 활성이 CCl_4군과 비교하여 RSC군에서 간의 total homogenate에서는 90.51%로, mitochondria fraction에서는 88.36%로 증가하였으며, 각각 72.74%와 72.68%로 억제 효과가 있었다. RS군에서는 NC군 보다 liver homogenate에서는 약 1.09배 증가하였고, mitochondri fraction에서는 NC군과 비슷한 경향을 나타내었다.

Table 6. The activity of GPx in liver total homogenate and mitochondrial fraction of CCl_4 treated rat

Experimental group	Total homogenate (U/mg protein)	Mitochondrial fraction (U/mg protein)
NC	194.69±4.54	192.57±5.60
RS	212.45±3.39	196.36±4.89
CCl_4	86.75±2.61	86.91±2.05
RSC	165.27±4.04*	163.70±3.10*

NC : Negative control group
RS : *Rhynchosia molubilis* saponin group
CCl_4 : CCl_4-treated group
RSC : *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group
Significantly different from the value of CCl_4 group at *p<0.05.

조직병리학적 관찰

CCl_4에 의한 조직학적 병변으로는 지질과산화 과정에서 형성되는 free radical에 의한 중심소엽주위에 집중된 괴사와 염증세포 침윤 등으로 알려져 있다. CCl_4로부터 toxic free radical인 CCl_3를 형성시키는 효소인 cytochrome P450이 중심소엽 부위에 고농도로 존재하므로 세포괴사가 이 부위에 집중적으로 나타나게 된다[9,19].

H&E 으로 염색한 조직 (0.5 ㎛)을 광학현미경 (100배, 200배)으로 관찰한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. NC군과 RS군에서는 동물의 간 조직이 중심정맥(central veins) 을 중심으로 잘 짜여진 소엽구조를 관찰할 수 있었으나, CCl_4를 투여한군의 간 조직은 중심정맥 주위의 간세포 괴사와 광범위한 울혈(centrilobular congestion)이 보여 진다. 손상부위에 염증세포의 침윤(infiltration)과 주위로 lipid 침착이 관찰되었다.

이에 비해 RSC군에서는 울혈과 세포 괴사가 완화되어

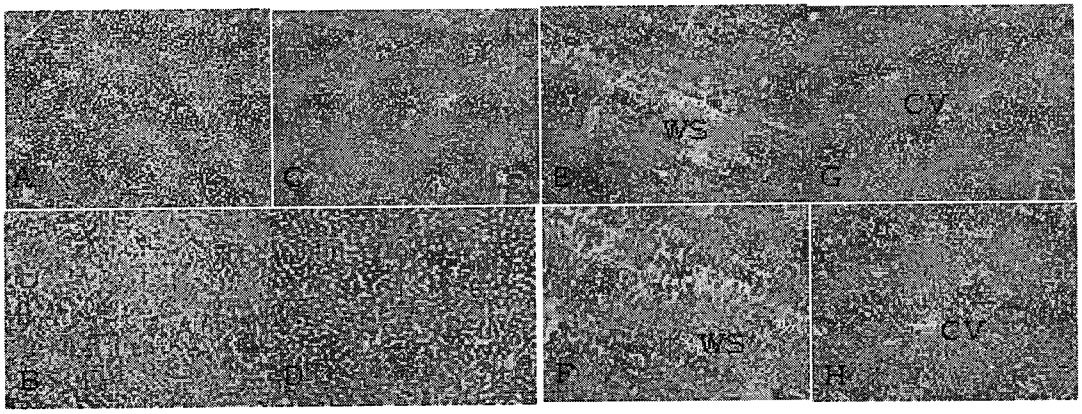

Fig. 1. Histopathologic examination in liver tissue of CCl_4-treated rat (H&E).
WS : wide space, CV : central vein
(A) Negative control group ; The tissue structure was intact. (×100)
(B) Negative control group ; The tissue structure was intact. (×200)
(C) *Rhynchosia molubilis* saponin group ; The tissue structure was intact. (×100)
(D) *Rhynchosia molubilis* saponin group ; The tissue structure was intact. (×200)
(E) CCl_4-treated group ; Note severe ballooning degeneration of hepatocytes. Formatuon of centrlobular necrotic zone was shown with infiltration of inflammatory cells and congestion. (×100)
(F) CCl_4-treated group ; Note severe ballooning degeneration of hepatocytes. Formatuon of centrlobular necrotic zone was shown with infiltration of inflammatory cells and congestion. (×200)
(G) *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group ; Note mild degeree of ballooning degeneration. (×100)
(H) *Rhynchosia molubilis* saponin + CCl_4-treated group ; Note mild degeree of ballooning degeneration. (×200)

간세포 변성면적이 작아짐으로써 지방이 국소적으로 중심정맥 주변에 분포하여 CCl_4군보다 상당히 개선되었음을 보여 주었다. 이는 AST 및 ALT 등을 포함하는 간 기능의 지표가 되는 분석 자료가 RSC군에서 개선 효과를 보인 것과 부합하는 결과이다.

요 약

이 연구는 CCl_4로 유도된 간독성에 노두 사포닌의 간 보호 효과를 연구하기 위해 수행되었다. SD-Rat를 2주 동안 노두 사포닌 100 mg/kg이 되도록 복강 내에 투여하였다. 14일째, CCl_4를 투여하고 12시간 후에 에테르 마취 후 간과 혈청을 분리했다. AST, ALT는 대조군에 비해서 노두 사포닌군이 65.56%와 59.04%로 억제되었다. MDA 수치는 대조군과 비교해서 노두 사포닌군의 간 homogenate에서 53.74% 억제되엇고, 미토콘드리아에서는 89.86% 억제 되었다. SOD의 활성은 대조군과 비교해서 노두 사포닌군의 간 homogenate에서 42.51% 억제되었고, 미토콘드리아에서는 38.42% 억제되었다. GPx의 활성은 대조군과 비교해서 노두 사포닌군의 간 homogenate에서 72.74% 억제되었고, 미토콘드리아에서는 72.68% 억제되었다. CCl_4으로 나타난 간세포의 괴사와 울혈이 노두 사포닌군 에서는 조직실험결과 감소되는 것으로 나타났다. 모든 데이터는 CCl_4로 유도된 간독성을 노두 사포닌이 보호하는 결과를 보였으며, 이는 간독성에 대한 보호효과를 가진 약물 소재 개발에 이용될 수 있다.

감사의 글

이 연구는 2004학년도 신라대학교 교내학술연구비로 이루어졌음.

참 고 문 헌

1. Bae, E. A. and G. S. Moon. 1997. A study on the antioxidative activities of Korean soybeans. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 203-208.
2. Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase : improved assays and an assay applicable to acrylamide gel. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
3. Bompart, G. J., D. S. Prevot, J. S. Bascands. 1990. Rapid automated analysis of glutathione reductase, peroxidase and Stranaferase activity : Application to Iisplatin-induced toxicity. *Clin. Biochem.* **23**, 501-504.
4. Cho, S. J., H. J. Baik, S. S. Lee, I. M. Chung, J. H. Ha, J. S. Kang, H. C. Koh, I. C. Shin and C. H. Lee. 2000. Studies on the ROS (Reactive Oxygen Speciess) -Scavenging Activities of DDMP Saponins isolated from Glycine max (L.) Merrill. *The Journal of Applied Pharmacology* **8**, 32-37.
5. Jeong, C. S., K. W. Jung and J. S. Jeong. 1999. Hepatoprotective Effect of Subfractions of *Carthamus tinctorius* L. Semen on the Reversal of Biotransformation Enzyme Activities in CCl_4-induced Hepatotoxic Rats. *J. Fd. Hyg. Safety* **14(2)**, 172-178.
6. Freeman, B. A., J. D. Crapo. 1982. Biology of disease : Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* **47**, 412-426.
7. Halliwell, B. 1987. Oxidants and human disease : Some new concepts. *FASEB* **1(5)**, 358-364.
8. Kim, C., Y. S. Lee, Y. Hahn. 2000. High performance liquid chromatographic analysis of isoflavones in soybean foods. *Korean J. Food Sci. Technol.* **32(1)**, 25-30.
9. Kulesar-Gergely, J. and A. Kluesar. 1997. Studies in the effects of ursodeoxycholic acid in rats with actue carbon tetrachloride injury. *Arzneim-Forsch./Drus Res.* **47**, 659-661.
10. Lawrence, R. A. and R. F. Burk. 1976. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952-958.
11. Logani, M. K. and R. E. Davis. 1980. Lipid peroxidation: biologic effects and antioxidants--a review. *Lipids* **15(6)**, 485-495.
12. Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. S. Farr and R. J. Randall. 1951. Protein Measurenment with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 256-261.
13. Ohkawa, A., N. Ohishi and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
14. Pecknagel, R. D. and E. A. Glende. 1973. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *CRC Crit. Rev. Toxicol.* **2**, 263-297.
15. Plaa, G. L. and W. R. Hewitt. 1982. Principles and Methods of Toxicology. pp. 407-445, Raben Press.
16. Pohl, L., R. Schulick and J. George. 1968. Reductive oxygenation mechanism of metabolism for carbon tetrachloride to phosgene by cytochrome P450. *Mol. Pharmacol.* **25**, 318-324.
17. Recknigel, R. O. 1967. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* **19**, 45-208.
18. Rosen, D. R. 1993. Mutations with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* **362**, 59-62.
19. Stewart, R. D., E. A. Boettner,, R. R. Southworth. 1963. Acute carbon tetrachloride intoxication. *JAMA* **23**, 994-997.
20. Takaharu, N. and Y. Kiyonori. 1999. Low-dose γ-ray irradiation reduces oxidative damage induced by CCl_4 in mouse liver. *Free Radical Biology Medicine* **27(11/12)**, 1324-1333.
21. Tainer, J. A., E. D. Getzoff, J. S. Richardson and D. C. Richardson. 1983. Structure and mechanism of Cu, Zn, superoxide dismutase. *Nature* **306**, 274-287.
22. 최원경. 1994. Streptozotocin 유발 당뇨쥐에 있어서 항산화적 방어기구 및 metallothionein 합성에 미치는 비타민 E의 영향. 효성여자대학교 박사학위논문.