

Isoniazid와 Nitrofurantoin으로 유발되는 간 세포독성에 대한 식물추출물의 보호효과

변에리사[#] · 정길생^{1#} · 이동성 · 리 빈 · 양숙현 · 범진선 · 려해자² · 안인파^{2,*} · 김윤철^{*}
원광대학교 약학대학, ¹원광대학교 인수공통감염병연구센터, ²연변대학교 약학대학

Protective Effects of Plant Extracts against Isoniazid- and Nitrofurantoin-Induced Cytotoxicity in HepG2 Cells

Erisa Byun[#], Gil-Saeng, Jeong^{1#}, Dong-Sung Lee, Bin Li, Suk-Hyun Yang, Jin-Seon Beom,
Hui-zi Lv², Ren-Bo An^{2,*} and Youn-Chul Kim^{*}

College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

¹Zoonosis Research Center, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

²Key Laboratory of Organism Functional Factors of the Changbai Mountain, College of Pharmacy,
Yanbian University; Yanji 133002, Jilin Province, China

Abstract – Isoniazid was discovered in 1950's and since then it has been widely used as a synthetic bactericidal agent in the treatment of tuberculosis. However, the adverse effect of isoniazid has been reported to show significant hepatotoxicity in approximately 1-2% of patients. Nitrofurantoin {1-(5-nitro-2-furfurylideneamino)-hydantoin} is a synthetic nitrofurantoin that is commonly used for the treatment and prophylaxis of urinary tract infections, but its use is associated with liver cirrhosis and fatal liver necrosis. Therefore, studies for natural products with protective effect on the isoniazid- and/or nitrofurantoin-induced hepatotoxicity would be valuable as the potential therapeutic use. 107 plants sources were collected at Mt. Baekdu, and extracted with methanol. These extracts had been screened for the protective effects against isoniazid- and/or nitrofurantoin-induced cytotoxicity in HepG2 cells at the both 100 and 300 µg/ml. Five methanolic extracts, *Acanthopanax senticosus*, *Acer mono*, *Asparagus schoberioides*, *Fagopyrum tataricum*, *Potentilla centigrana*, showed significant protective effects against isoniazid-induced hepatotoxicity. Two methanolic extracts, *Acer mono* and *Leonurus artemisia*, showed significant protective effects against nitrofurantoin-induced cytotoxicity in HepG2 cells.

Key words – Hepatoprotective, Plant extract, HepG2, Isoniazid, Nitrofurantoin

많은 의약품이 각종 질병의 예방 및 치료에 이용되고 있으며, 동시에 의약품 사용에 의한 부작용이 발생하고 있다. 현재 사용하고 있는 의약품 중 600종 이상이 급성 또는 만성 간 손상을 유발할 수 있다고 보고되어 있다.¹⁾ 간장은 약물대사의 주요기관이며, 각종 물질의 대사 및 소화기계로 들어온 생체 외 물질로부터 전신을 방어하는 기능을 수행하고 있다. 또한 질병의 치료목적으로 생체 내로 들어온 약물과 같은 외부 물질이 간을 통과함으로써 영양소외에도 독성물질에 노출될 위험이 여타의 장기에 비해 손상될 수 있는 확률이 비교적 높기 때문에 의약품의 부작용으로 인한

간 손상에 대한 심각성이 재인식되고 있다.

Isoniazid는 항결핵약제 중 가장 효과가 우수하다고 알려져 있다. 그러나 이 약물을 매일 복용하는 환자들의 20% 이상에서 간의 enzyme활성이 증가되고, 1-2% 환자들에 있어서는 가역적인 간 손상이 유발된다고 보고되어 있다.²⁾ 또한, nitrofurantoin{1-(5-nitro-2-furfurylideneamino)-hydantoin}은 요로감염의 치료와 예방에 사용되고 있으나, 치명적인 간경변증과 간 괴사를 일으키기 때문에 투약의 제한을 비롯한 신중한 투여가 요구되고 있다.³⁾ 따라서 천연물로부터 isoniazid와 nitrofurantoin에 의한 간 독성을 감소시킬 수 있는 화합물을 발견하는 것은 의약품으로 인한 간 손상 억제 물질 검색과 간 보호물질 탐색에 있어서 중요하다고 생각된다.

[#]이 저자들은 본 논문에 있어서 동등한 역할을 수행함.

*교신저자 (E-mail): yckim@wku.ac.kr, anrb@ybu.edu.cn
(Tel): 063-850-6823, +86-433-266-0606

본 연구에서는 isoniazid와 nitrofurantion으로 독성을 유발한 사람 간암 세포 유래의 HepG2 세포주를 대상으로 백두산에 자생하는 식물추출물의 세포생존율에 대한 증가 여부를 관찰하여 간 세포보호활성을 평가하였다. HepG2 세포주는 인간 유래의 불멸화된 간 세포로서 많은 일차배양 간 세포의 기능을 가지고 있기 때문에 간 세포 보호 활성 검색 시 *in vitro* 모델로 활용되고 있다.⁴⁾ 백두산은 북한의 양강도 삼지연군(三池淵郡)과 중국 동베이지방(동북지방;만주)의 지린성 (길림성)이 접하여 있는 산으로, 해발 고도는 2,744 m 이고, 총면적은 8000 km²이며, 또한 백두산 식물의 분포는 2,000 m에 달하는 고도 차이로 인하여 다양한 식물들이 분포하고 있다. 이와 같은 생물다양성이 풍부한 백두산 자생 식물로부터 간 독성의 부작용을 나타내는 의약품인 isoniazid와 nitrofurantoin에 대한 보호작용을 탐색하여 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에 사용한 백두산 식물의 메탄올 추출물은 2007년 5월에 중국 연변대학 약학원으로부터 제공 받았으며, 식물 표본은 중국 연변대학 약학원에 보관되어 있다. 시료의 메탄올 추출물은 DMSO에 녹여 50 mg/ml의 농도로 stock solution을 제조하였으며 이를 RPMI 배지로 희석하여 사용하였다.

시약 및 기기 - RPMI 배지와 trypsin-ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), fetal bovine serum(FBS)는 Gibco Laboratories사에서 구입하였다. Isoniazid, nitrofurantoin, silybin, (-)-epigallocatechin gallate(EGCG)와 3'-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)는 Sigma사에서 구입하였다. 96-Well tissue culture plates와 기타 tissue culture dishes는 Falcon사 제품을 이용하였다. 흡광도는 BioRad사의 Microplate Reader를 이용하여 측정하였다.

HepG2 세포배양 및 간 세포 보호활성 측정 - 사람 간암세포 유래 HepG2 세포주는 American Type Culture Collection에서 분양 받아 사용하였으며, isoniazid와 nitrofurantion으로 독성을 유발한 세포주로부터 세포 보호 활성측정은 An 등⁹⁾의 방법에 따라 실시하였다. 간략하게 설명하면, HepG2 세포 (1×10^4 cells/well)를 10% heat-inactivated FBS, penicillin G (100 IU/ml)와 streptomycin (100 µg/ml)을 함유한 RPMI 배지에 분주하고 5% CO₂ 배양기 내에서 37°C에서 12시간 배양한 다음, 시료 용액 (100, 300 mg/ml)과 40 mM isoniazid 또는 1.5 mM nitrofurantoin을 처리한 후 각각 24, 4 시간 동안 5% CO₂ 배양기 내에서 배양하였다. 세포생존율은 MTT법을 활용하여 측정하였고, 양성대조약물로는 silybin (50 µg/ml), (-)-epigallocatechin

gallate (70 µg/ml)를 사용하였다. 모든 실험치는 대조군에 대한 세포보호율을 평균치로 표시하였으며, 각각 3회 반복 실험치를 이용하여 계산하였다.

결과 및 고찰

Isoniazid는 1950년대에 개발된 항결핵 약물로써, 현재까지 결핵 치료에 중추적인 역할을 담당하는 의약품으로 이용되고 있다. Isoniazid의 항결핵 메카니즘은 결핵균의 외피를 통하여 결핵균 내로 들어가서 활성산소종 등의 산화적 스트레스를 유발하여 결핵균을 사멸시키는 것으로 알려져 있다.^{7,8)} 그러나 isoniazid는 심각한 부작용 가지고 있으며, 이는 isoniazid를 복용하는 환자의 1-2%에서 나타나는 간 독성이다.⁹⁾ 또한 이러한 간 독성은 초기에 발견하지 못하면 잠재적인 사망요인이 될 수 있다고 알려져 있다.¹⁰⁾ 한편, nitrofurantoin은 요로 감염에 사용되는 항생제로서, 박테리아의 ribosomal proteins, DNA 및 다른 거대 분자들을 공격하거나, respiration 또는 pyruvate metabolism 등을 저해함으로써 그 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.¹¹⁾ 그러나 nitrofurantoin의 투여에 따른 심각한 부작용 중의 하나로 간 경변 및 간 괴사 등이 보고되어 있다.³⁾ 따라서, 이들 두 가지 약물에 의하여 유발되는 간 독성을 감소시키는 천연물을 발견하는 것은 중요하다고 생각된다.

본 연구에서는 생물다양성이 풍부한 백두산 자생 식물의 메탄올 추출물을 이용하여 간 세포 보호활성물질을 발견할 목적으로 간 독성이 알려진 isoniazid와 nitrofurantoin을 사람 간암세포 유래의 HepG2 세포주에 처리한 후 세포생존율을 증가시키는 추출물을 검색하였다. 총 107종의 백두산 식물로부터 얻어진 메탄올 추출물을 각각 100, 300 µg/ml의 농도에서 간 보호효과를 검색한 결과를 Table I에 나타냈다. 저자들은 간 세포보호 활성물질의 분리, 정제를 하기 위하여 1차적으로 유의한 보호효과를 나타내는 후보 추출물을 선정하는 기준으로서 실험에 이용한 각각의 농도(100, 300 µg/ml)에서 30% 이상의 보호율을 자체기준으로 하였다. MTT assay를 이용하여 세포 생존율을 간접적으로 측정하였으며, 대조군과 비교하여 보호율을 구하였다.

Isoniazid에 의한 간 세포 독성에 의한 보호효과를 나타내는 식물 추출물은 100 µg/ml 농도에서는 21종, 300 µg/ml 농도에서는 11종이었다. *Acer triflorum* (leaf)와 *Sambucus williamsii* (branch)가 각각의 농도에서 가장 높은 보호율을 나타냈으며, *Acer triflorum* (leaf)와 *Sambucus williamsii* (branch)의 보호율은 각각 52.5, 51.9%이었다. *Asparagus schoberioides* (aerial part), *Carex mongolica* (whole plant), *Clematis hexapetala* (rhizome), *Impatiens noli-tangere* (whole plant), *Oryza sativa* (fruit), *Potentilla centigrana* (aerial part), *Sambucus williamsii* (branch), *Veronica*

Table I. Protection (%) of MeOH extracts from plants of Mt. Baekdu on isoniazid- and nitrofurantoin-induced cytotoxicity in HepG2 cells.

Plant origin	Parts	Isoniazid		Nitrofurantoin	
		100 µg/ml	300 µg/ml	100 µg/ml	300 µg/ml
<i>Acanthopanax senticosus</i> Harms.	bark	34.3	33.7	-13.6	-13.5
<i>Acanthopanax sessiliflorus</i> (Rupr. & Maxim.) S. Y. Hu	branch	28.1	17.4	19.1	15.2
<i>Acer mono</i> Maxim.	leaf	41	30	34.4	54.1
<i>Acer triflorum</i> Kom.	leaf	52.5	15.7	-2.7	41.5
<i>Allium macrostemon</i> Bunge	rhizome	22.2	29.7	-4.5	-7.0
<i>Allium tuberosum</i> Rottler	fruit	2.0	3.2	-17.2	-27.3
<i>Alopecurus aequalis</i> Sobol.	whole plant	3.0	-6.4	-39.2	-41
<i>Angelica dahurica</i> Benth. et Hook.	root	15.8	8.6	-1.5	-17.4
<i>Aquilegia oxysepala</i> Trautv. et Mey.	aerial part	-32.2	-29.8	1.6	4.4
<i>Arabis pendula</i> L.	aerial part	9.1	15.8	-2.9	-9.9
<i>Arisacma amurense</i> Maxim. var. <i>violaceum</i> Engl.	rhizome	31.9	8.1	-4.3	-11.7
<i>Artemisia stolonifera</i> (Maxim.) Kom.	aerial part	13.4	17.3	-19.5	-26.5
<i>Artemisia sacrorum</i> Ledeb.	aerial part	21.4	-22.7	-10.5	1.2
<i>Artemisia siversiana</i> (Ehrh.) Willd.	aerial part	6.9	4.0	-6.7	-16.9
<i>Arthraxon hispidus</i> Makino var. <i>breviseus</i>	whole plant	-0.6	7.9	-0.3	-4.4
<i>Asparagus schoberioides</i> Kunth.	aerial part	31.4	32.5	-12.2	-26.5
<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	root	12.3	2.5	-5.7	-3.3
<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi	rhizome	-31.0	-87.4	-3.2	-40.4
<i>Axyris amaranthoides</i> L.	aerial part	35.5	-4.4	-4.5	-18.2
<i>Berberis amurensis</i> Rupr.	aerial part	32.9	12.1	-0.1	-12.8
<i>Bupleurum chinensis</i> DC.	root	4.5	-102.5	-2.0	-55.9
<i>Caltha palustris</i> L. var. <i>sibirica</i> Regel	aerial part	4.5	16	-24.7	-19.9
<i>Carex mongolica</i> A.I. Baranov & Skvortz.	whole plant	22.2	40.1	-9.0	-17.7
<i>Carduus crispus</i> L.	aerial part	31.2	22.6	-13.1	-15.9
<i>Caulophyllum robustum</i> Maxim.	root	1.4	-32	-13.1	-113.6
<i>Caulophyllum robustum</i> Maxim.	aerial part	7.7	-6.5	-9.3	-33.6
<i>Cicuta virosa</i> L.	aerial part	31.8	3.3	-14.6	-14.6
<i>Cirsium pendulum</i> Fisch.	aerial part	0.3	-3.8	-20.2	-32.8
<i>Cirsium segetum</i> Bunge	aerial part	8.8	-8.5	-2.1	-22.3
<i>Clematis hexapetala</i> Pall.	aerial part	17.3	13.1	2.9	-8.0
<i>Clematis hexapetala</i> Pall.	rhizome	5.5	35.2	-9.5	-14.1
<i>Codonopsis pilosula</i> (Franch.) Nannf.	root	7.3	6.0	-6.7	-1.9
<i>Cynanchum ascyrifolium</i> Matsum.	aerial part	6.6	0.5	-2.4	-15.6
<i>Delphinium maackianum</i> Regel	aerial part	22.9	25.4	-8.7	-15.2
<i>Dianthus chinensis</i> L.	whole plant	20.2	18.6	25.1	16.1
<i>Dictamnus dasycarpus</i> Turcz.	root	8.7	-10.9	-2.2	-13.8
<i>Doellingeria scaber</i> (Thunb.) Nees.	whole plant	40.4	23.4	-10.6	-20
<i>Epimedium koreanum</i> Nakai	aerial part	2.5	-20.5	-15.9	-22.2
<i>Erigeron canadensis</i> L.	aerial part	12.8	6.4	0.2	7.2
<i>Euonymus alatus</i> Sieb.	branch	7.6	2.9	-10.6	-9.9
<i>Fagopyrum tataricum</i> (L.) Gaertn.	whole plant	35.9	30.6	-6	-20.4
<i>Fraxinus rhynchophylla</i> Hance	bark	14.2	-22.9	-9.4	0
<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	aerial part	10.4	16.4	-9.6	-20
<i>Galium verum</i> L.	whole plant	29.3	28.6	-13.5	-13.2
<i>Ganoderma lucidum</i> Karsten.	whole plant	0.4	-21.4	-21.1	-30.2
<i>Ginkgo biloba</i> L.	leaf	2.7	10.7	-0.9	-2.7
<i>Ginkgo biloba</i> L.	branch	-27.7	9.2	8.1	25.3

Table I. Continued.

Plant origin	Parts	Isoniazid		Nitrofurantoin	
		100 µg/ml	300 µg/ml	100 µg/ml	300 µg/ml
<i>Gleditsia japonica</i> Miquel var. <i>koraiensis</i>	fruit	9.6	-5.0	-1.0	-4.4
<i>Heracleum mantegazzianum</i> Hance	Root	0.1	1.1	-21.2	-20.9
<i>Hypericum ascyron</i> L.	aerial part	34.2	9.7	-19.2	-16.5
<i>Impatiens noli-tangere</i> L.	whole plant	22.7	33.1	-16.8	-18.8
<i>Ixeris chinensis</i> (Thunb.) Nakai	whole plant	22.5	3.1	-4.1	-5.9
<i>Jeffersonia dubia</i> (Maxim.) Benth. et Hook.	whole plant	44.8	-9.6	-16.9	-37.1
<i>Leonurus artemisia</i> (Lour.) S.Y. Hu	fruit	2.6	-25.2	47.1	49.1
<i>Leonurus macranthus</i> Maxim.	aerial part	21.1	-48.6	2.6	-18.2
<i>Lepidium apetalum</i> Will.	whole plant	-11.2	-16.5	3.4	-20.8
<i>Lespedeza juncea</i> (L. f.) Pers.	aerial part	4.4	-8.4	-12.4	-19.7
<i>Lespedeza tomentosa</i> Sieb. ex Maxim.	aerial part	8.7	-11.7	0.4	6.8
<i>Ligusticum acutilobum</i> Sieb. et Zucc.	root	2.8	19.7	-5.8	-5.7
<i>Lychnis fulgens</i> Fish.	aerial part	21.7	-11.1	-14.8	-17.6
<i>Lycium chinense</i> Miller	fruit	-6.6	10.8	9.0	2.0
<i>Malva verticillata</i> L.	aerial part	21.6	22.2	11.7	-0.9
<i>Melampyrum roseum</i> Maxim.	whole plant	26.3	-7.5	23.5	32.1
<i>Melilotus albus</i> Des.	aerial part	19.8	-14.1	6.4	-7.7
<i>Metaplexis japonica</i> (Thunb.) Makino	whole plant	24.8	23	-16	-30.7
<i>Morus alba</i> L.	branch	15.2	9.6	-4.2	9.6
<i>Morus alba</i> L.	leaf	17.9	25.3	-16	2.8
<i>Oryza sativa</i> L.	fruit	10.9	40.0	-19.6	-39.6
<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	root	13.5	12.6	-6.2	-18.4
<i>Pedicularis resupinata</i> L.	aerial part	17.5	17.6	-26.4	-36.3
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> for. <i>viridi</i>	leaf	-13.9	-41.7	-3.9	-15.3
<i>Platycodon grandiflorum</i> A. DC	root	24.3	-28.0	-11.5	-57.1
<i>Polygonatum odoratum</i> (Miller) Druce	rhizome	20.6	14.7	6.8	2.1
<i>Polygonum hydropiper</i> L.	whole plant	30.8	-1.4	21.0	10.5
<i>Polygonum senticosum</i> (Meisn.) Franch.	whole plant	-3.5	-7.5	-13.3	-21.3
<i>Polygonum sieboldii</i> De Vriese.	aerial part	5.3	-16.4	-12.9	-28.8
<i>Populus davidiana</i> Dode	aerial part	29.8	-8.6	-13.4	-38.5
<i>Potamogeton distinctus</i> Bennet.	whole plant	-7.8	-28.7	-6.5	-7.5
<i>Potentilla centigrana</i> Maxim.	aerial part	37.9	40.8	-2.1	18.9
<i>Pulsatilla dahurica</i> (Fisch. ex DC.) Spreng.	aerial part	-2.2	-3.7	1.5	21.2
<i>Pyrus ussuriensis</i> Maxim.	leaf	22.3	-0.3	-15.9	-19.1
<i>Ranunculus japonicus</i> Thunb.	whole plant	15.5	17.2	-5.9	-16.9
<i>Ranunculus repens</i> L.	aerial part	11.3	6.8	5.5	6.6
<i>Ribes mandshuricum</i> (Maxim.) Kom.	branch	30.0	9.7	-12.1	-33.7
<i>Rubia cordifolia</i> L.	aerial part	1.2	-4.1	-6.5	-23.9
<i>Rumex acetosa</i> L.	aerial part	18.8	17.5	-17.5	-23.9
<i>Salsola collina</i> Pall.	whole plant	22.4	23.8	-10.5	-14.7
<i>Sambucus williamsii</i> Hance	branch	23.0	51.9	-2.2	-4.3
<i>Sanguisorba parviflora</i> (Maxim.) Takeda	aerial part	27.1	-11.9	9.8	32.7
<i>Saussurea pulchella</i> Fisch. ex DC	aerial part	3.8	-22.9	-21.2	-45.7
<i>Securinega suffruticosa</i> (Pall.) Rehd.	branch	27.6	14.7	21.4	30.6
<i>Sedum aizoon</i> L.	aerial part	33.3	22.2	4.1	-1.5
<i>Siegesbeckia pubescens</i> Makino	aerial part	14.9	22.7	-20.4	-28.1
<i>Sophora flavescens</i> Aiton	root	34.4	-25.1	-2.7	-16.7
<i>Synurus deltoideus</i> Nakai	aerial part	3.4	4.2	3.4	-1.3

Table I. Continued.

Plant origin	Parts	Isoniazid		Nitrofurantoin	
		100 µg/ml	300 µg/ml	100 µg/ml	300 µg/ml
<i>Syringa reticulata</i> (Blumb.) Hara	bark	37.2	-17.3	-11.7	-21.7
<i>Taraxacum mongolicum</i> Hand-Mazz.	aerial part	18.6	11.9	5.5	15.9
<i>Tilia amurensis</i> Rupr.	branch	18.2	21.2	-22.5	-39.1
<i>Tribulus terrestris</i> L.	whole plant	-8.5	4.7	-2.5	-1.6
<i>Trifolium lupinaster</i> L.	aerial part	6.7	-0.4	-10.4	-26.4
<i>Veronica anagallis-aquatica</i> L.	whole plant	23.7	49.3	-13.3	-10.5
<i>Viburnum burejaticum</i> Regel	aerial part	13.5	0.9	5.2	-6.5
<i>Vicia japonica</i> A.Gray	aerial part	31.8	22.9	-14.2	-18.1
<i>Vicia uni juga</i> A.Br.	aerial part	23	1.2	-11.4	-25.2
<i>Viscum coloratum</i> (Kom.) Nakai	whole plant	35.2	20.6	-11	-18.1
<i>Xanthium stromarium</i> L.	fruit	6.9	10.3	-22.5	-37.6
<i>Zea mays</i> L.	pistil	9.9	-5.5	-26.3	-29.1

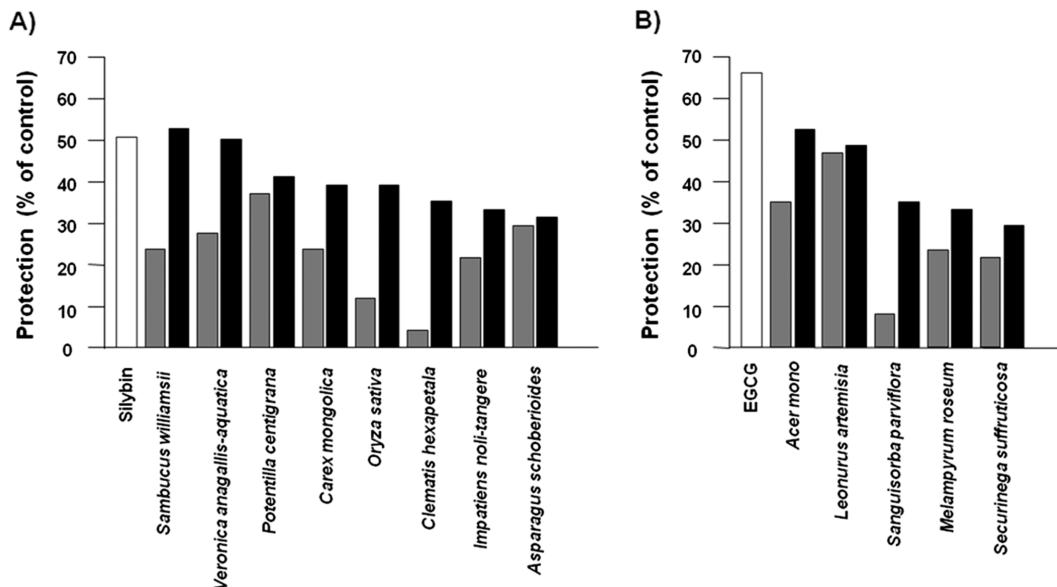


Fig. 1. Hepatoprotective effects of MeOH extracts against isoniazid- and nitrofurantoin-induced cytotoxicity in HepG2 cells. (A) Cytotoxicity was assessed after incubating for 24 h with 40 mM of isoniazid in RPMI medium. (B) Cytotoxicity was assessed after incubating for 2 h with 1.5 mM of nitrofurantoin in RPMI medium. (white bar : (A) silybin 50 µg/ml, (B) (-)-epigallocatechin gallate(EGCG) 70 µg/ml, grey bar : 100 µg/ml, black bar : 300 µg/ml)

anagallis-aquatica (whole plant)의 8종 식물 추출물은 실험에 사용한 시료의 농도에 비례하여 세포 보호율이 증가하였다. 이들의 보호율은 Fig. 1A와 같다. 간 보호물질로 알려진 silybin을 양성 대조약물로 사용하였고, silybin은 50 µg/ml에서 41.5%의 보호율을 나타냈다.

Nitrofurantoin에 의한 간 세포 독성에 의한 보호효과를 나타내는 식물 추출물은 100 µg/ml 농도에서는 2종, 300 µg/ml의 농도에서는 6종이었다. *Leonurus artemisia* (fruit)와 *Acer mono* (leaf)가 각각의 농도에서 가장 높은 보호율을 나

타냈으며, 이들 추출물의 보호율은 각각 47.1, 54.1%이었다. *Acer mono* (leaf), *Leonurus artemisia* (fruit), *Asparagus schoberioides* (aerial part), *Melampyrum roseum* (whole plant), *Sanguisorba parviflora* (aerial part), *Securinega suffruticosa* (branch)의 5종 식물 추출물은 농도에 비례하여 세포 보호율이 증가하였다. 이들의 보호율은 Fig. 1B와 같다.

Nitrofurantoin의 간 독성 유발 기전에 대해서는 산화적 스트레스,¹²⁾와 mitochondrial respiration의 저해에 기인된다고 보고되었다.¹³⁾ (-)-Epigallocatechin gallate(EGCG)는 간

mitochondria와 microsome에서 지질과산화물 억제한다는 사실¹⁴⁾에 입각하여 양성대조약물로 사용하였다. EGCG는 70 µg/ml의 농도에서 67.7%의 보호율을 나타냈다. Isoniazid와 nitrofurantoin의 2가지 간 세포 독성물질에 대해서 공통적으로 간 세포를 보호하는 효과를 나타내는 식물 추출물은 *A. mono* (leaf)와 *A. triflorum* (leaf)의 2종의 추출물임을 알 수 있었다. 이 중 *A. triflorum*에 대한 간 보호 효과는 현재까지 보고되지 않은 것으로 판단되며, *A. mono*의 함유 성분 중 stilbene 배당체류의 화합물들이 랫드 유래 일차배양 간세포에서 과산화수소로 유도한 간 독성으로부터 보호 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다.^{15,16)} 본 연구에서 활성이 나타난 식물 추출물에 대해서는 앞으로 활성물질의 규명 및 구체적인 작용기전의 연구를 진행함으로써 생물다양성이 풍부한 백두산 자생 식물로부터 새로운 간 보호물질의 발견에 기여할 것으로 기대된다.

결 론

천연물로부터 현재 질병의 예방 및 치료에 이용되고 있는 isoniazid와 nitrofurantoin의 부작용으로 알려진 간 독성을 억제할 수 있는 화합물을 발견하기 위한 기반 연구로서, 백두산에 자생하는 107종의 식물의 메탄올 추출물로부터 인간 간 세포 유래의 불멸화시킨 HepG2 세포주에 대한 보호 활성을 검색하였다. 2가지 간 세포독성 유발물질 모두에 유의한 보호 효과를 나타내는 것으로는 *Acer mono* (leaf)와 *A. triflorum* (leaf)의 2종이었으며, 이들 추출물에 함유된 활성물질의 분리 및 기전 연구가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 연구는 길림성 과학기술발전계획지원 연구비 (吉林省科技发展计划资助项目 (项目编号: 200705427)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Jim, L. K. and Gee, J. P. (1995) Adverse effects of drugs on the liver. In young, L. Y and Koda-Kimble, M. A. (ed.), Applied therapeutics: The clinical use of drugs, 26-1-26-17, Applied Therapeutics, Inc., Vancouver.
2. Mitchell, J. R., Long, M. W., Thorgeirsson U. P. and Jollow, D. J. (1975) Acetylation rates and monthly liver function tests during on year of isoniazid preventive therapy. *Chest*. **68**: 181-190
3. Edoute Y., Karmon Y., Roguin A. and Ben-Ami H. (2001) Fatal liver necrosis associated with the use of nitrofurantoin. *Isr. Med. Assoc. J.* **3**: 382-383.
4. Grant, M. H., Duthie, S. J., Gray, A. G. and Burke, M. D. (1988) Mixed function oxidase and UDP-glucuronyltransferase activities in the human HepG2 hepatoma cell line. *Biochem. Pharmacol.* **37**: 4111-4116.
5. 주팅칭, 앤중카이, 주서우보우 (2005) 백두산 식물도감, 10-12. 도서출판 일진사, 서울.
6. An, R. B., Oh, H. and Kim, Y. C. (2005) Phenolic constituents of *Galla Rhois* with hepatoprotective effects on tacrine- and nitrofurantoin-induced cytotoxicity in HepG2 cells. *Biol. Pharm. Bull.* **28**: 2155-2157.
7. Bardou, F., Raynaud, C., Ramos, C., Lsneelle, M. A. and Laneelle, G. (1998) Mechanism of isoniazid uptake in *Mycobacterium tuberculosis*. *Microbiology* **144**: 2539-2544.
8. Snodgrass, W., Poter, W. Z., Timbrell, J., Jollow, D. J. and Mitchell, J. R. (1974) Possible mechanism of isoniazid related hepatic injury. *Clin. Res.* **323**: 22.
9. Barlow, P. B., Black, M., Brummer, D. L., Comstock, G. W., Dubin, I. N., Enterline, P., Gibson, M. L., Hardy, G. E., Harrel, J. A., Johnston, R. F., Kent, D. C., Marvin, V. A., Mc Caig, N. C., Mitchel, J. R., Mosley, J. W., Ogasawara, F. R., Popper, H., Reichmen, L. B. and Zillmerman, H. J. (1974) Preventive therapy of tuberculosis infection. *Am. Rev. Resp. Dis.* **110**: 371-374.
10. Shoeb, H. A., Browman, B. U., Ottolenghi, A. C. and Merola, A. J. (1985) Peroxidase mediated oxidation of isoniazid. *Antimicrob. Agents. Chemother.* **27**:399-403.
11. Tu, Y. and McCalla, D. R. (1975). Effect of activated nitrofurans on DNA. *Biochem. Biophys. Acta* **402**: 142-49.
12. Carbonera, D., Angrilli, A. and Azzone, G. F. (1988) Mechanism of nitrofurantoin toxicity and oxidative stress in mitochondria. *Biochim. Biophys. Acta* **936**: 139-147.
13. Lim, L. O., Bortell, R. and Neims, A. H. (1986) Nitrofurantoin inhibition of mouse liver mitochondrial respiration involving NAD-linked substrates. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **84**: 493-499.
14. Okuda, T., Kimura, Y., Yoshida, T., Hatano, T., Okuda, H. and Arichi, S. (1983) Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chem. Pharm. Bull.* **31**: 1625-1631.
15. Yang, H., Lee, M. K. and Kim, Y. C. (2005) Protective activities of stilbene glycosides from *Acer mono* leaves against H₂O₂-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 4182-4186.
16. Yang, H., Sung, S. H. and Kim, Y. C. (2005) Two new hepatoprotective stilbene glycosides from *Acer mono* leaves. *J. Nat. Prod.* **68**: 101-103.

(2009년 6월 5일 접수)