

# 자초 (*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 투여가 Galactosamine으로 유도된 간손상에 미치는 보호 효과

이 현 화, 윤 중 식<sup>1</sup>, 송 선 영<sup>2,\*</sup>

조선대학교 자연과학대학 생물학과, <sup>1</sup>생물방제센터, <sup>2</sup>광주보건대학 피부미용과

## Protective Effect of *Lithospermum erythrorhizon* on Galactosamine Induced Liver Injury

Hyun Hwa Lee, Jung Sik Yoon<sup>1</sup>, Seon-Young Song<sup>2,\*</sup>

Department of Biology, College of Natural Sciences, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

<sup>1</sup>Bio Control Center, 272 ChangJung-ri, Ip-myon, Goksung-gun, Jeollanam-do 516-942, Korea

<sup>2</sup>Department of Skin and Beauty, Gwangju Health College University, Gwangju 506-701, Korea

(Received February 22, 2010; Revised March 22, 2010; Accepted March 23, 2010)

### ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the hepatoprotective effect of water extract of *Lithospermum erythrorhizon* on acute hepatotoxicity induced in Sprague-Dawley (SD) rats by a single dose of galactosamine (400 mg/kg, i.p). The animals were divided into four groups. The animals in the Con group were fed basal diet. GalN group were administered with galactosamine. LE200 and LE500 groups treated with water extract of *Lithospermum erythrorhizon* (such as 200 and 500 mg/kg/day, p.o) for 7 days before galactosamine injection.

In the change of AST, ALT, ALP, GGT and LDH contents, as compared with GalN group, LE200 group were significantly decreased. According to the electron microscopical observation, liver cells were increased the lipid droplet, change of mitochondria in the GalN compared with LE200. These results suggest that administration of water extract of *Lithospermum erythrorhizon* suppress or retard galactosamine induced acute liver injury.

**Keywords** : ALP, ALT, Galactosamine, GGT, *Lithospermum erythrorhizon*, liver injury

### 서 론

자초(*Lithospermum erythrorhizon* Siebold et Zuccarini)는 생약명은 자초(紫草), 자단(紫丹)이고 지초(芝草), 자근(紫根), 자지(紫芝), 지치, 자경, 자초자, 자근주치 등 여러 이름으로 불리우는 여러해살이 풀로 우리나라 전역에 야생하고

있다(Cho et al., 1999). 현재까지 알려진 성분으로는 naphthoquinone pigment로 shikonin, acetylshikonin, isobutylshikonin, isovalerylshikonin 등과 lithospermic acid, polysaccharide로 lithosperman A, B, C 등이 있으며, 약리 작용으로는 shikonin에 의한 신진대사의 산화환원반응 조절 및 창상과 화상의 신생촉진(Min et al., 2005), acetylshikonin과 shikonin에 의한 항염증 작용(Kang, 2005)이 보고되었다. 특히 Staniforth

이 논문은 2009년도 광주보건대학 학술연구비 지원에 의해 이루어졌음.

\* Correspondence should be addressed to Seon-Young Song, Department of Skin and Beauty, Gwangju Health University, 688-3, Shinchang-dong, Gwangsan-gu, Gwangju 506-701, Korea. Ph.: (062) 958-7735, Fax: (062) 958-7795, E-mail: ssy5608@ghc.ac.kr

등(2004)에 의해 자초의 주성분인 shikonin이 in vivo에서 대표적인 염증성 사이토카인인 tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )를 억제하는 효능이 있음을 보고한 바 있다. 또한 shikonin 유도체에 의한 항암작용(Sankawa et al., 1981)과 항종양 작용 등(Kim & Ahn, 1990; Hisa et al., 1998; Kim, 1999; Singh et al., 2003; Hou et al., 2006)이 보고되어 있다. 이와 같이 자초는 다양한 생리학적·약리학적 효능을 지니고 있는 것으로 알려져 있으나, 국내에서는 다양한 활성 분석 및 그 기작에 관한 연구가 미흡한 실정이다.

Galactosamine(이하 GalN)은 간세포에 독성을 나타내며, 실험동물에 투여시 간세포의 지방변화, 염증성 세포 반응 및 간세포의 괴사 등이 나타나 마치 virus성 간염과 유사한 병변을 유도한다(Keppler et al., 1968). 특히 GalN의 급성 중독 시에는 간괴사, 만성중독의 경우는 간경변과 세포성 종양이 일어나게 된다(Farber et al., 1973). 이러한 GalN의 간독성에 관한 기전은 간세포내에서 uridine phosphate 화합물이 galactose 대사과정에서 고갈되어 uridine 대사가 억제되고 그 결과 RNA와 단백질 합성에 이상을 일으켜 세포막의 투과성이 변화되어 세포내로 많은 양의 칼슘이 유입되면서 간세포의 괴사가 일어나는 것으로 설명되고 있다(Decker & Keppler, 1974; Tran-Thi et al., 1985).

이에 자초 추출물이 in vivo에서 GalN 투여에 의해 야기된 간손상에 미치는 영향을 효소 활성의 변화와 조직학적 변화를 통하여 알아보하고자 이 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

실험동물은 체중  $210 \pm 10$  g 내외의 Sprague Dawley계 웅성 흰쥐((주)샘타코, 한국)를 이용하였다. 실험동물은 동신대학교 한의과대학 동물사육실에서 일정한 조건(온도:  $21 \pm 2$  °C, 습도: 50~60%, 명암: 12시간 주기)하에서 일반 고형사료((주)샘타코, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

### 2. 자초 열수추출물 추출방법

실험에 이용한 자초는 경북 영천에서 생산된 것으로 시중 약재상인 갑당약초(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 자초 500 g에 3차 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 진탕기에서 2시간 동안 100°C로 가열하여 액상으로 추출하여 여과지로 여과하였다. 추출된 액체를 G5 glass filter로 여과하여 vacuum evaporator(Tokyo Rekakikai Co. Ltd., Japan)로 감압 진공 농축한 후 freeze dryer를 이용하여 동결건조한 다음 사용하였다.

### 3. 실험군 설정

아무런 처치를 하지 않고 정상 식이를 공급한 군을 대조군, galactosamine (400 mg/kg; D-galactosamine · HCl, Sigma)을 1회 복강내로 주사한 다음, 24시간 후에 간을 절제한 군을 GalN군, 자초 추출물(200 mg/kg)을 매일 1회씩 7일간 복강내 주사한 후, 마지막 자초 추출물 투여일에 galactosamine (400 mg/kg)을 1회 복강내 주사하고 24시간 후에 장기를 절제한 군을 LE200군, 그리고 자초 추출물(500 mg/kg)을 매일 1회씩 7일간 복강내 주사한 후, 마지막 자초추출물 투여일에 galactosamine (400 mg/kg)을 1회 복강내 주사하고 24시간 후에 장기를 절제한 군을 LE500군으로 설정하였다.

### 4. 채혈 및 혈청 중의 효소 활성 측정

흰쥐를 urethane으로 마취한 다음 복부의 정중선을 따라 절개하고 심장에서 채혈을 시행하였다. 혈액은 시험관에 넣어 실온에서 30분간 방치하여 혈액을 응고시킨 다음 3,000 rpm에서 원심분리하고 상등액을 회수하여  $-80^{\circ}\text{C}$  초저온 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. AST (Aspartate Aminotransferase), ALT (Alanine Aminotransferase), ALP (Alkaline phosphatase), GGT ( $\gamma$ -glutamyl transpeptidase), LDH (Lactate Dehydrogenase)의 활성 측정은 자동분석키트 시약(아산제약)을 사용하여 생화학자동분석기(photometer 5010, Germany)에서 측정하였다.

### 5. 광학현미경 관찰

광학현미경 관찰을 위해 적출한 간조직을 10% NBF 용액으로 24시간 동안 고정시킨 다음 흐르는 물에 수세하고, 에탄올계열로 탈수하였다. 그리고 xylene으로 투명화 과정을 거친 후 paraffin으로 포매하였다. 포매가 완료된 블럭은 microtome을 사용해 5  $\mu\text{m}$  두께로 절편을 제작하였다. 박절된 절편은 Hematoxylin과 Eosin으로 염색, 봉합하여 광학현미경(BX51, Olympus)으로 관찰하였다.

### 6. 전자현미경 관찰

투과전자현미경 관찰을 위하여 광학현미경 시료와 동일한 부위의 조직을 절취하여 세절한 후 2.5% glutaraldehyde 용액(phosphate buffer, pH 7.4)로 2시간 동안 전고정 하였다. 동일 완충액을 사용해 수세한 다음 1% osmium tetroxide에 2시간 후고정시키고 동일 완충액으로 세척하였다. 이후 알코올 상승 농도순으로 탈수하여 propylene oxide로 치환한 다음 Epon 혼합액으로 포매한 후 오븐에서 72시간 중합시켰다. Epon block은 ultramicrotome(MT-7000)을 사용해 1  $\mu\text{m}$  두께로 박절하여 1% toluidine blue로 염색한 다음 광

**Table 1.** The level of biochemical parameters in serum

Group <sup>1)</sup>	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	GGT (U/L)	LDH (U/L)
Con	54±1.36 <sup>2)</sup>	30±0.5	150±12.86 <sup>2)</sup>	71±1.08	1478±95.11
GalN	179±3.8*	96±1.1*	422±15.08*	117±1.07*	5603±128.7*
LE200	153±1.4* <sup>3)</sup>	79±2.1* <sup>#</sup>	230±9.57* <sup>3)</sup>	85±1.66* <sup>#</sup>	2206±162.7* <sup>#</sup>
LE500	168±3.1*	89±0.8* <sup>#</sup>	250±17.95* <sup>#</sup>	95±1.81* <sup>#</sup>	3051±17.95* <sup>#</sup>

<sup>1)</sup>Con, control group; GalN, Galactosamine (400 mg/kg) only; LE200, Galactosamine+*Lithospermum erythrorhizon* extract (200 mg/kg); LE400, Galactosamine+*Lithospermum erythrorhizon* extract (400 mg/kg); LE500, Galactosamine+*Lithospermum erythrorhizon* extract (500 mg/kg). <sup>2)</sup>All values are Mean±S.E (n=5). <sup>3)</sup>Significant differences were compared with control/ GalN at \*p<0.05, #p<0.05.

학현미경으로 관찰하여 특정 부위를 택하여 60 nm 두께의 초박절편을 제작하였으며 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 다음 투과형 전자현미경 (Hitachi, H-7650)으로 가속전압 80 kV하에서 관찰하였다.

### 7. 통계처리

실험 결과는 Mean±SE로 표시하였고, 대조군과 실험군과의 평균의 차이를 검정할 때에는 Student's t-test로 검정하여 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 혈액 내 효소 활성도

AST, ALT, ALP, GGT, LDH의 활성도가 GalN군, LE200군, LE500군 모두 정상대조군에 비하여 증가하였다. AST는 LE200군(153±1.4 U/L)은 GalN군(179±3.8 U/L)에 비해서 감소하였지만 LE500군(168±3.1 U/L)은 통계적인 차이를 보이지 않았다. 한편 ALT, ALP, GGT, LDH의 활성도는 LE200군과 LE500군 모두 GalN군에 비해 모두 통계적으로 유의하게 감소하였다(Table 1).

### 2. 광학현미경적 결과

대조군에서는 중심정맥에서부터 방사상으로 간세포삭이 배열되었고, 그 사이에 동모양모세혈관이 형성되었다. 간세포는 다각형으로서 1개의 핵이 존재하였다(Fig. 1A). 그러나 Galactosamine을 단독투여한 GalN군에서 동모양모세혈관이 폐쇄되었으며, 문맥부와 간소엽내에서 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 간세포는 전반적으로 팽대되었고, 핵의 소실까지 동반하는 괴사성 변화가 다수 관찰되었다(Fig. 1B). 자초 추출물을 투여한 LE200군에서는 중심정맥에서부터 방사상으로 간세포의 배열이 관찰되었으나, 대조군에 비해 동모양모세혈관의 내강이 다소 좁아져있는 경향을 보였다(Fig. 1C). LE500군에서는 일부 간세포의 괴사성 변화가 관찰되기도 하였다(Fig. 1D).

### 3. 전자현미경적 결과

대조군에서는 정상적인 cristae 구조를 갖는 미토콘드리아와 전형적인 과립세포질세망의 층판구조가 관찰되었다(Fig. 2A). 그러나 galactosamine을 단독투여한 GalN군에서는 미토콘드리아의 cristae가 불규칙한 모양을 하고 있었다. 또한 세포질내에서 다양한 크기의 지방방울이 관찰되었으며 과립세포질세망은 양적인 감소와 더불어 미토콘드리아 사이사이에서 분절된 채로 간혹 관찰되기도 하였다(Fig. 2B). 자초 추출물을 투여한 LE군들의 과립세포질세망은 내강이 다소 팽창되어 있었으나 층판구조를 형성하고 있었다. 그러나 LE500군에서 미토콘드리아의 cristae가 일부 불규칙한 모양을 하고 있었다(Fig. 2C, D).

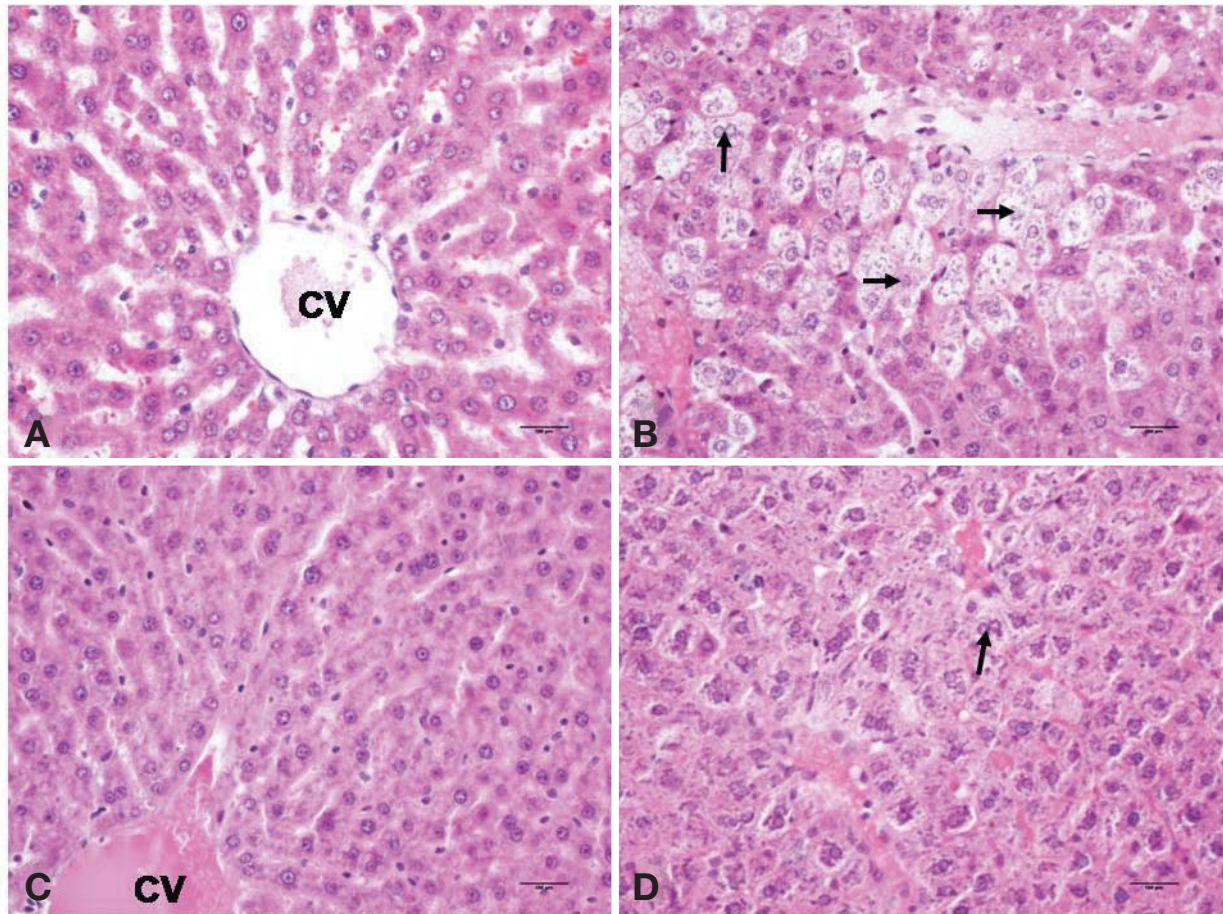
## 고 찰

자초의 약리작용으로는 뿌리 추출물에서 Konoshima 등(1989), Jin 등(1995), Kim 등(2001)은 항암작용을 보고하였으며, Weng 등(2000), Pan 등(2004)은 항산화 효과를 보고하였다. Choi 등(2005)은 monoamine oxidase를 억제하는 naphthoquinones 계열 성분이 존재함을 확인하였으며, Chung 등(2005)은 자초 추출물이 NF-κB의 활성을 억제함으로써 LPS/rIFN-γ 유도된 생성되는 NO와 TNF-α의 생성을 억제한다고 보고하였다. Hwang 등(2003)은 항염효과를 보고하였으며, Yamasaki 등(1993)은 자초의 뜨거운 물 추출물이 차가운 물 추출물보다 더 강한 항 AIDS효과가 있다고 보고하였다.

자초의 주요 성분인 shikonin은 naphthoquinones 계열의 색소 성분으로 Hsu 등(2004)과 Zhang 등(2005)이 항암 효과를 보고하였으며, Singh 등(2003)은 shikonin이 인간이 표피암세포의 성장을 억제한다고 보고하였다.

다양한 분야에서 virus성 간염과 유사한 병변을 일으키는 galactosamine에 의한 간손상의 조직학적 보고는 있지만 자초추출물의 투여효과와 관련된 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구는 galactosamine에 의한 간손상에 자초 추출물이 미치는 영향에 대하여 관찰하였다.

Galactosamine은 생체 구성성분 속에 존재하며 간장애를



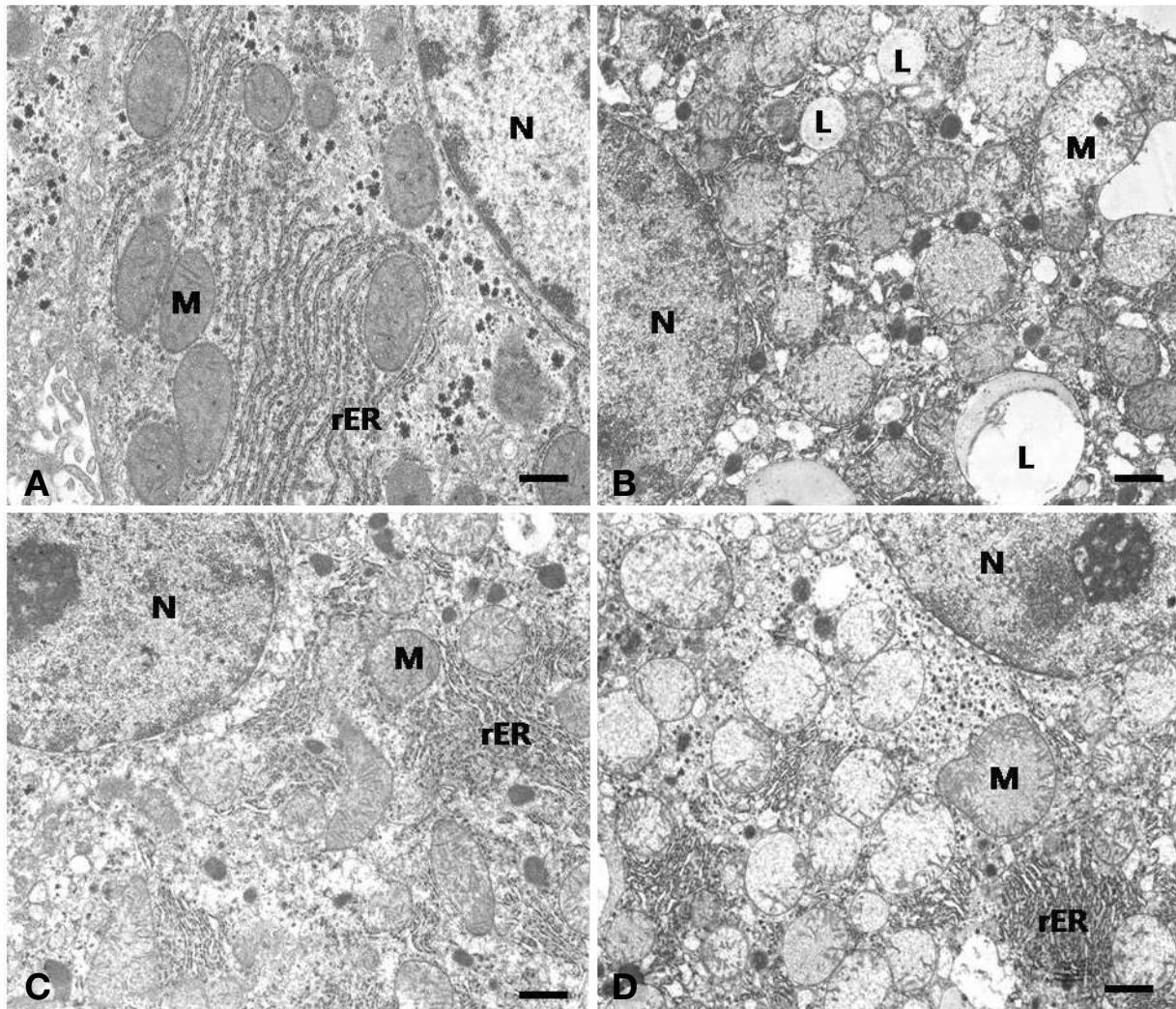
**Fig. 1.** Histological sections of liver of rats in response to extract from *Lithospermum erythrorhizon* in the galactosamine induced liver injury. Arrow indicate necrotic nuclei. A, control group; B, Galactosamine (400 mg/kg) only; C, Galactosamine (400 mg/kg)+*Lithospermum erythrorhizon* extract (200 mg/kg/day); D, Galactosamine (400 mg/kg)+*Lithospermum erythrorhizon* extract (500 mg/kg/day). CV: central vein. Hematoxylin-Eosin stain. Original magnification  $\times 400$ .

일으키는 작용을 하는 약물로, 조직학적으로 virus성 간염과 유사하며, 간세포내에서 UDP-hexosamine hexosamine을 축적시켜 간세포내의 UTP, UDP 및 UMP를 감소시키는 것으로 알려져 있다. 이로 인해서, macromolecules (nucleic acid, glycoproteins, glycolipids in membranes, glycogen 등)의 uracil nucleotide 의존성 생합성의 저하로 세포내 소기관 손상을 유발하여 결국은 간세포의 괴사를 초래한다(Padma & Setty, 1997). 또한, 최근의 연구에 의하면, D-galactosamine은 mitochondria막에서의 site I, II, III에 걸친 전자 전달을 방해함으로써, oxidation과 phosphorylation을 낮추어 lipid peroxidation을 증가시킨다고 한다(Kim et al., 2009). 따라서 본 연구에서는 자초추출물이 galactosamine을 투여한 후의 변화를 알아보기 위해 AST, ALT, ALT, GGT, LDH 활성도와 간조직을 관찰하였다.

Aminotransferase는 아미노기 전이반응을 촉매하는 효소의 총칭으로 AST와 ALT가 가장 많이 이용되고 있다. 세포

내의 에너지 공급이 감소되면 세포내의  $K^+$  이온이 세포외로 유출되고  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$  및 수분이 세포내로 유입이 된다. 그 결과 세포는 팽창되고, 세포막이 늘어나게 되어 세포질에 존재하는 AST와 ALT가 유출된다. 세포 밖으로 빠져나간 AST 및 ALT는 순환혈액 중으로 빠르게 유출되어 간 손상 시 정상치보다 현저히 증가됨으로서 간기능 검사에 이용되고 있다(Yi & Kim, 1988). 실험결과 자초 추출물 투여군들이 galactosamine 투여군들에 비해 유의성 있는 감소현상을 나타내었다.

ALP는 담즙을체시 간에서 생산된 ALP가 담즙 중으로 배설장애와 내압 항진에 의한 간에서 ALP 생성이 증가로 혈중 ALP 활성도가 현저히 증가하는 것으로 알려져 있으며(Zieve et al., 1988), 본 연구에서도 galactosamine 투여군은 대조군에 비해 유의한 증가를 보였다. 한편 자초 추출물을 투여한 군들에서는 ALP 효소활성도의 상승을 억제하는 경향을 나타내었다.



**Fig. 2.** Electron micrograph of hepatocytes from rats. A, control group; B, Galactosamine (400 mg/kg) only; C, Galactosamine (400 mg/kg)+*Lithospermum erythrorhizon* extract (200 mg/kg/day); D, Galactosamine (400 mg/kg)+*Lithospermum erythrorhizon* extract (500 mg/kg/day). L, lipid droplet; M, mitochondria; N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum. Scale bars=100 nm.

GGT는  $\gamma$ -glutamyl기를 다른 peptide나 l-amino acid에 전이하는 전이 효소로서 간 특이효소로 알려져 있다(Szasz, 1969). 이 효소 또한 간조직 손상시 혈중으로의 유출이 증가되므로 간기능검사 지표로 많이 이용되고 있다. 본 실험결과 자초 추출물 투여군들이 galactosamine 투여군들에 비해 유의성있는 감소현상을 나타내었다.

LDH는 간, 심장, 신장, 근육 등 생체 내에 널리 분포하지만 transaminase와 함께 간세포 장애시에 혈중에 증가하는 이탈효소이나 체내분포가 광범위하기 때문에 장기특이성이 낮고 또 간질환에서 혈중 활성도 증가가 AST와 ALT에 비해 낮은 경우가 많다(Hong et al., 2004). 본 실험의 결과에서, LDH는 자초 추출물을 투여한 군들에서 galactosamine을 투여한 군에 비하여 유의적인 감소현상을 나타내었다.

Whang (2001)은 Galactosamine 투여 후 3일 후에 조직소

견상 중심정맥, 문맥 및 문맥 주위에 간세포 괴사와 함께 임파구 침윤과 국소적 출혈이 동반된 소견을 보이며, 문맥 주변에 담관세포 증식이 있고 소수포성 지방 침윤을 보인다고 하였다. 본 실험의 광학현미경 관찰결과에서도 galactosamine 투여군에서는 동모양모세혈관이 폐쇄되었으며, 문맥부와 간소엽내에서 염증세포의 침윤이 관찰되었다. 간세포는 전반적으로 팽대되어 galactosamine에 의한 간세포 손상이 확인되었다. 그러나 자초 추출물을 투여한 군들에서는 간손상의 정도가 다소 감소됨을 확인하였다.

Cho 등(1992)은 galactosamine을 투여한 후 간세포의 핵은 원형의 모습을 보였고, 뚜렷한 핵소체가 관찰되었으며 사립체는 부분적으로 cristae가 확장된 부종을 보였으며 과립세포질세상은 심한 확장으로 인해서 부분적으로 낭성변화를 보였다고 하였다. 또한 Huh 등(1992)은 galactosamine 투

여시 미세형태학적으로 간괴사를 일으키지 않은 간세포에서 미토콘드리아의 변형, 지방적의 증가, 과립세포질세망과 골지체 등 소기관의 감소 등을 일으킨다고 하였다. 본 실험에서도 galactosamin 투여군에서 미토콘드리아의 cristae는 불규칙한 모양을 하고 있었으며, 과립세포질세망의 층판구조가 분절된 채로 관찰되었다. 그러나 자초 추출물을 투여한 군들에서는 과립세포질세망은 내강이 다소 팽창되었으나 층판구조를 형성하였고 미토콘드리아의 cristae는 대조군과 유사한 형태로 관찰되었다.

본 실험에서 자초 추출물의 투여가 galactosamine에 의한 간손상에 미치는 영향을 생화학적 및 조직학적 변화를 관찰한 결과 간기능 장애 효소인 AST, ALT, ALP, GGT와 LDH가 유의적으로 감소하였고, 간조직의 변화도 완화되었다. 이는 간조직의 손상에 대한 자초 추출물의 방어효과가 있는 것으로 사료되며, 이후로는 작용기전에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Bulgakov VP, Kozyrenko MM, Fedoreyev SA, Mischenko NP, Denisenko VA, Zvereva LV, Pokushalova TV, Zhuravlev YN: Shikonin production by p-fluorophenylalanine resistant cells of *Lithospermum erythrorhizon*. *Fitoterapia* 72(4) : 394-401, 2001.
- Chen X, Yang L, Oppenheim JJ, Howard MZ: Cellular pharmacology studies of shikonin derivatives. *Phytother Res* 16(3) : 199-209, 2002.
- Cho TH: The effect of N-dimethylnitrosamine and D-galactosamine on the ultrastructural changes of liver and kidney in the rat. *J Kor Surg Soc* 43(5) : 633-640, 1992. (Korean)
- Cho MH, Paik YS, Hahn TR: Physical stability of shikonin derivatives from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* cultivated in Korea. *J Agric Food Chem* 47(10) : 4117-20, 1999.
- Choi WH, Hong SS, Lee SA, Han XH, Lee KS, Lee MK, Hwang BY, Ro JS: Monoamine oxidase inhibitory naphthoquinones from the roots of *Lithospermum erythrorhizon*. *Arch Pharm Res* 28(4) : 400-404, 2005.
- Chung HS, Kang M, Cho C, Park S, Kim H, Yoon YS, Kang J, Shin MK, Hong MC, Bae H: Inhibition of lipopolysaccharide and interferon-gamma-induced expression of inducible nitric oxide synthase and tumor necrosis factor-alpha by *Lithospermum radix* in mouse peritoneal macrophages. *J Ethnopharmacol* 102(3) : 412-417, 2005.
- Decker K, Keppler D: Galactosamine hepatitis: key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 71 : 77-106, 1974.
- Farber JL, Gill G, Konishi Y: Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am J Pathol* 72(1) : 53-62, 1973.
- Hong SS, Gibney GT, Esquilin M, Yu J, Xia Y: Effect of protein kinases on lactate dehydrogenase activity in cortical neurons during hypoxia. *Brain Res* 1009(1) : 195-202, 2004.
- Hsu PC, Huang YT, Tsai ML, Wang YJ, Lin JK, Pan MH: Induction of apoptosis by shikonin through coordinative modulation of the Bcl-2 family, p27, and p53, release of cytochrome c, and sequential activation of caspases in human colorectal carcinoma cells. *J Agric Food Chem* 52(20) : 6330-6337, 2004.
- Hwang H, Kim H, Yu H, Oh M, Lee I, Kim S: Gene encoding pathogenesis-related 10 protein of *Lithospermum erythrorhizon* is responsive to exogenous stimuli related to the plant defense system. *Plant Sci* 165 : 1297-1302, 2003.
- Hwang SG: Animal models of acute hepatic failure. *The Kor J Gastroenter* 37(5) : 303-311, 2001. (Korean)
- Huh YJ, Shin HH, Lee KH, Suh IS: The role of endotoxin on the galactosamine induced liver injury. *Kyungpook Univ Med J* 32(4) : 401-415, 1992. (Korean)
- Jin R, Wan LL, Mitsuishi T: Effects of shi-ka-ron and Chinese herbs in mice treated with anti-tumor agent mitomycin C. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* 15(2) : 101-103, 1995.
- Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K: Experimental hepatitis induced by D-galactosamine. *Exp Mol Pathol* 9(2) : 279-90 1968.
- Kim SH, Kang IC, Yoon TJ, Park YM, Kang KS, Song GY, Ahn BZ: Antitumor activities of a newly synthesized shikonin derivative, 2-hyim-DMNQ-S-33. *Cancer Lett* 172(2) : 171-175, 2001.
- Kim SH, Heo JH, Kim YS, Kang SS, Choi JS, Lee SM: Protective effect of daidzin against D-galactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic failure in mice. *Phytother Res* 23(5) : 701-706, 2009.
- Konoshima T, Kozuka M, Tokuda H, Tanabe M: Anti-tumor promoting activities and inhibitory effects on Epstein-Barr virus activation of Shi-un-kou and its constituents. *Yakugaku Zasshi* 109(11) : 843-846, 1989.
- Lee HJ, Lee HJ, Magesh V, Nam D, Lee EO, Ahn KS, Jung MH, Ahn KS, Kim DK, Kim JY, Kim SH: Shikonin, acetylshikonin, and isobutyrylshikonin inhibit VEGF-induced angiogenesis and suppress tumor growth in lewis lung carcinoma-bearing mice. *Yakugaku Zasshi* 128(11) : 1681-1688, 2008.
- Padma P, Setty OH: Effect of administration of galactosamine hydrochloride on rat liver mitochondria. *Indian J Biochem Biophys* 34(3) : 296-301, 1997.
- Pan YM, Liang Y, Wang HS, Liang M: Antioxidant activities of several Chinese medicine herbs. *Food Chem* 88(3) : 347-350, 2004.
- Sankawa U, Otsuka H, Kataoka Y, Iitaka Y, Hoshi A, Kuretani K.: Antitumor activity of shikonin, alkannin and their derivatives. II. X-ray analysis of cyclo-alkannin leucoacetate, tautomerism of alkannin and cyclo-alkannin and antitumor activity of alkannin derivatives. *Chem Pharm Bull* 29(1) : 116-122, 1981.
- Singh F, Gao D, Lebowitz MG, Wei H: Shikonin modulates cell proliferation by inhibiting epidermal growth factor receptor signaling in human epidermoid carcinoma cells. *Cancer Lett* 200(2) :

- 115-121, 2003.
- Staniforth V, Wang SY, Shyur LF, Yang NS: Shikonins, phytochemicals from *Lithospermum erythrorhizon*, inhibit the transcriptional activation of human tumor necrosis factor alpha promoter in vivo. *J Biol Chem* 279 : 5877-5885, 2004.
- Szasz G: A kinetic photometric method for serum gamma-glutamyl transpeptidase. *Clin Chem*. 15(2) : 124-136, 1969.
- Wang JF, Wendel A: Studies on the hepatotoxicity of galactosamine/endotoxin or galactosamine/ TNF in the perfused mouse liver. *Biochem Pharmacol* 39(2) : 267-70, 1990.
- Weng XC, Xiang GQ, Jiang AL, Liu YP, Wu LL, Dong XW, Duan S: Antioxidant properties of components extracted from puccoon (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.). *Food Chem* 69(2) : 143-146, 2000.
- Yamasaki K, Otake T, Mori H, Morimoto M, Ueba N, Kurokawa Y, Shiota K, Yuge T: Screening test of crude drug extract on anti-HIV activity. *Yakugaku Zasshi* 113(11) : 818-824, 1993.
- Zhang ZQ, Cao XC, Zhang L, Zhu WL: Effect of shikonin, a phytochemical compound from *Lithospermum erythrorhizon*, on rat vascular smooth muscle cells proliferation and apoptosis in vitro. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 85(21) : 1484-1488, 2005.
- Zieve L, Anderson WR, Dozeman R: Hepatic regenerative enzyme

activity after diffuse injury with galactosamine: relationship to histologic alterations. *J Lab Clin Med* 112(5) : 575-582, 1988.

#### < 국문 초록 >

본 연구는 galactosamine 투여로 인해 유발된 흰쥐의 간독성에 미치는 자초추출물의 효과를 알아보기 위해 자초 추출물을 각각 200 mg/kg과 500 mg/kg을 매일 1회씩 7일간 복강내 주사한 후, 마지막 자초 추출물 투여일에 galactosamine을 주사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

AST, ALT, ALP, GGT와 LDH의 활성도에서는 LE200군이 GalN군에 비해 유의적으로 감소하였다. 그리고 조직학적 변화에서, GalN군은 염증세포의 침윤과 국소적인 괴사성 변화가 나타났지만, LE군들에서는 GalN 투여에 의한 변화가 상당히 경감되었다. 또한 미세구조적 변화에서는 GalN군은 미토콘드리아의 변형, 지방적의 증가, 조면소포체의 분절 등 세포소기관의 변형을 유발하였다. 그러나 LE군들에서는 대조군과 유사한 소견을 보여 주었다.

이상의 결과들로 보아, 자초추출물은 galactosamine 투여로 간독성을 유발시킨 흰쥐의 간 조직에 장애를 주지 않으면서 간독성을 완화시키는 효과가 있다고 사료된다.