



Original Article / 원저

## 사염화탄소 유도성 급성 간 손상 모델에서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 비율에 따른 간 보호 효능 연구

최범락<sup>1,2#</sup>, 조일제<sup>3#</sup>, 정수진<sup>4</sup>, 김재광<sup>3</sup>, 이대건<sup>3</sup>, 구세광<sup>3\*</sup>, 박기문<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>뉴트라코어, <sup>2</sup>성균관대학교 식품생명공학과, <sup>3</sup>대구한의대학교 한의과대학,  
<sup>4</sup>전북대학교병원 의생명연구센터

## Study on the hepatoprotective effects of lemon balm and dandelion leaf extract combination in carbon tetrachloride-mediated liver injured mice

Beom-Rak Choi<sup>1,2#</sup>, Il Je Cho<sup>3#</sup>, Su-Jin Jung<sup>4</sup>, Jae Kwang Kim<sup>3</sup>, Dae Geon Lee<sup>3</sup>,  
Sae Kwang Ku<sup>3\*</sup>, Ki-Moon Park<sup>1\*\*</sup>

<sup>1</sup>Nutraco Co., Ltd,

<sup>2</sup>Department of Foodscience and Biotechnology, Sungkyunkwan  
University,

<sup>3</sup>College of Korean Medicine, Daegu Haany University,

<sup>4</sup>Biomedical Research Institute of Chonbuk National University Hospital

### ABSTRACT

**Objectives** : Present study investigated the hepatoprotective effects of various combinations of lemon balm and dandelion (LD) leaf extract on carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced acute liver injury.

**Methods** : Mice were orally treated with 200 mg/kg of LD extracts [1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 2:1, 4:1, 6:1, or 8:1 (weight : weight)] for 7 days, and then intraperitoneally injected with CCl<sub>4</sub> (0.5 mL/kg). Silymarin (100 mg/kg) was used as reference drug. Body weight gain, relative liver weight, serum biochemistry, histopathologic analyses, and hepatic antioxidant system were examined to elucidate the fittest combination ratio of LD extract.

**Results** : All varying combinations of LD extract significantly increased body weight gain and decreased relative liver weight by CCl<sub>4</sub>. In addition, LD extract reduced serum aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase.

© 2019 The Korean Medicine Society For The Herbal Formula Study

This paper is available at <http://www.formulastudy.com> which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Histopathological analyses indicated that LD extract significantly decreased histological activity index score, degenerated hepatocytes, and infiltrated inflammatory cells induced by CCl<sub>4</sub>. Moreover, LD extract reduced lipid peroxidation, and attenuated the reduction of hepatic glutathione, superoxide dismutase, and catalase by CCl<sub>4</sub>. Although there were no statistical differences in body weight gain between silymarin- and LD extract-treated groups, administration of 1:1, 2:1, and 4:1 combination of LD extract exhibited more favorable hepatoprotective effects than silymarin. Especially, 2:1 combination of LD extract showed the most potent hepatoprotective effects.

**Conclusion :** Of various combinations of LD extract tested, present results suggest that 2:1 combination of LD extract would be a promising herbal formulation to protect liver from oxidative stress.

**Key words :** Acute liver injury, Carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>), Dandelion leaf extract, Herbal combination, Lemon balm leaf extract.

## I. 서론

간은 영양분의 대사, 해독, 혈장 단백질의 생성, 혈당 조절 등을 담당하는 주요 대사 장기이다. 일반적으로 환경 유래의 다양한 독성 물질에 다량 노출되었을 때 간 손상이 유발되며, 경미한 일시적 간 효소의 혈액 내 증가에서부터 간섬유화, 간경화 및 간암에 이르기까지 광범위한 병리학적 변화를 수반할 수 있다. 현재까지 다양한 원인들이 간 손상의 주요 원인으로 제시되어 왔으며, 이 중 간 조직 내 축적된 산화적 스트레스가 가장 중요한 요인으로 생각되고 있다<sup>1)</sup>. 따라서, 부작용이 적고 강력한 항산화물질을 함유한 천연 약재를 중심으로 산화적 스트레스를 제어할 수 있는 다양한 간 보호 약물들을 발굴하기 위한 연구가 현재까지 활발히 진행되어 왔으나, 서양영경귀 [*Silybum marianum* (L.) Gaertn.] 유래의 flavonoid 화합물인 silymarin 이외에 뚜렷한 간 보호 효능을 가진 약물의 발굴 및 상업화는 성공하지 못하고 있는 실정이다<sup>2)</sup>.

레몬밤 (Lemon balm, *Melissa officinalis* L.)은 꿀풀과 (Lamiaceae)에 속하는 다년초로써 레몬 향과 맛으로 말미암아 동서양에서 食醫藥 소재와 인체친화형 제품들에 널리 사용되어 온 식물이다<sup>3)</sup>. 레몬밤에 함유된 다양한 항산화물질들에 의하여 산화적 스트레스로부터 세포를 보호하고, 각종 스트레스와 통증을

완화하며, 알츠하이머병에서 인지 기능의 개선에 도움을 주는 것으로 보고되었다<sup>3-6)</sup>. 더불어 레몬밤은 비알코올성 지방간염, 비만, 동맥경화를 포함한 지질 대사와 관련된 다양한 질환들의 증상을 개선할 수 있는 가능성이 제시되었다<sup>7-10)</sup>.

민들레 (Dandelion, *Taraxacum officinale* (L.) Weber ex F.H.Wigg, Taraxaci Herba)는 菊花科 (Asteraceae)에 속하는 다년초로써 한의학에서는 민들레와 동근연속식물의 말린 초를 蒲公英이라 부른다. 민들레는 性이 寒하고, 味가 苦甘하며 肝胃經으로 入하여 清熱解毒, 消腫散結, 利尿通淋의 효능이 있어 疔瘡腫毒, 乳癰, 癰癤, 目赤, 肺癰, 腸癰, 濕熱黃疸, 熱淋澀痛 병증의 치료에 활용되어 온 藥材이다<sup>11)</sup>. 민들레에 포함된 다양한 항산화물질들에 의하여 산화적 스트레스가 매개되는 다양한 질병 (예, 암, 당뇨, 뇌질환 등)을 억제할 수 있는 효능이 보고되었을 뿐만 아니라<sup>12-14)</sup>, 아세트아미노펜, 사염화탄소, 알코올, 메티오닌/콜린 결핍 식이, 고지방 식이에 의하여 유도되는 다양한 급만성 간질환에 대한 치료 효능이 있음이 규명되었다<sup>15-20)</sup>. 더불어 본 연구그룹에서는 선행 연구로써 사염화탄소로 유도한 급성 간독성 동물모델에서 상업적으로 활용 가능한 표준화된 4종의 민들레 열수 추출물에 대한 효능 연구를 통하여 우수한 간 보호 효능을 가진 민들레 잎 열수 추출물을 도출하였다<sup>21)</sup>. 레몬밤과 민들레 잎 추출물 각각의

\*Corresponding author : Sae Kwang Ku. Research Center for Herbal Convergence on Liver Disease, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 1, Hanuidae-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38610, Republic of Korea.

Tel : +82-53-819-5149, Fax : +82-53-819-1860, E-mail : gucci200@hanmail.net

\*\*Corresponding author : Ki-Moon Park. Department of Foodscience and Biotechnology, Sungkyunkwan University, 2066, Seobu-ro, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do, 16419, Republic of Korea.

Tel : +82-31-290-7806, E-mail : Pkm1001@skku.edu

<sup>†</sup>B.-R. Choi and I. J. Cho contributed equally to this work.

•Received : July 17, 2019 / Revised : August 21, 2019 / Accepted : August 23, 2019

급만성 간질환 치료 및 예방에 활용 가능한 후보소재로서의 가능성이 제시되었으나, 이들 추출물을 최적으로 혼합하여 급만성 간질환을 상승적으로 제어하려는 시도는 부족하였다. 따라서 본 연구에서는 간질환 치료를 위한 신규 복합 조성물을 개발하기 위하여 레몬밤 잎 추출물과 민들레 잎 추출물의 혼합 비율에 따른 간 보호 효능을 silymarin 또는 각 추출물 단독의 효능과 비교 연구를 수행하여 급만성 간질환을 개선할 수 있는 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 최적 혼합 비율을 도출하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료 및 시약

레몬밤 잎 추출물 [Lemon balm leaf extract (LB); Batch #, F4232001; Code #, LB-F2016Ku01]과 민들레 잎 추출물 [Dandelion leaf extract (DL), Batch #, H3020701; Code #, DL-F20116Ku02] 각 25 kg을 PHYTONUTRIMEDI (Jeonju, Korea)에서 구입하여 4°C에 보관하였다. Silymarin, 사염화탄소 (carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>), thiobarbituric acid, 2-nitrobenzoic acid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, nitroblue tetrazolium blue 및 hematoxylin & eosin을 포함한 분석용 시약들은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

### 2. 실험동물의 사육과 시험물질의 처치

실험동물의 사육과 처치는 대구한의대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (연구윤리 승인번호, DHU2017-030)을 얻은 후 수행되었다. SPF/VAF Outbred CrjOri:CD1 (ICR) 6주령 수컷 마우스 112마리를 오리엔트 바이오 (Seongnam, Korea)로부터 공급받아 표준 사육 환경 (온도, 20-25°C; 습도, 40-60%; 12시간 간격의 밤낮주기)에서 1주일간 순화시킨 후 총 14개군 [N=8/group; Vehicle, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + silymarin, CCl<sub>4</sub> + LB, CCl<sub>4</sub> + DL, CCl<sub>4</sub> + LD (1:1), CCl<sub>4</sub> + LD (1:2), CCl<sub>4</sub> + LD (1:4), CCl<sub>4</sub> + LD (1:6), CCl<sub>4</sub> + LD (1:8), CCl<sub>4</sub> + LD (2:1), CCl<sub>4</sub> + LD (4:1), CCl<sub>4</sub> + LD (6:1), CCl<sub>4</sub> + LD (8:1)]으로 분리하였다. 간략하게 대조군으로써 멸균 증류수에 용해한 레몬밤 잎 추출물 (200 mg/kg), 민들레 잎 추출물 (200 mg/kg), silymarin (100 mg/kg)을 7일간 경구 투여하였으며, 선행 연구

에 근거하여 투여 용량을 설정하였다<sup>10,18,20,21</sup>. 레몬밤 잎 추출물과 민들레 잎 추출물 단독 투여보다 우수한 효능을 나타낼 수 있는 혼합 비율을 연구하기 위하여 각 추출물을 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 2:1, 4:1, 6:1 또는 8:1의 중량비로 혼합하여 멸균증류수에 용해한 후 최종 200 mg/kg의 농도로 7일간 투여하였다. 마지막 시험물질 투여 1시간 후에 olive oil에 희석한 CCl<sub>4</sub> (0.5 mL/kg)를 복강 투여하여 급성 간 독성을 유도하였으며, CCl<sub>4</sub> 투여 24시간 후에 실험동물을 희생하여 혈액과 간을 채취하였다. Vehicle group은 멸균증류수와 olive oil을 투여하였다. 시험물질 투여 시작과 종료 전 12시간 동안 실험동물의 사료 공급은 중단하였다.

### 3. 중체량 (weigh gain)과 간 상대중량 (relative liver weight)의 측정

실험 시작과 종료 후 실험동물의 무게를 전자저울 (Precisa Instrument, Zuerich, Switzerland)로 측정하여 중체량을 계산하였으며, 실험종료 후 적출한 간 무게를 실험동물의 체중으로 나누어 간 상대중량을 계산하였다.

### 4. Aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT) 활성 측정

혈액의 AST와 ALT 활성은 자동혈액분석기를 이용하여 측정하였다 (DriChem NX500i; Fuji Medical System, Tokyo, Japan).

### 5. 간 조직의 조직형태학적 분석 (histomorphometrical analysis)

기확립된 선행 연구방법에 따라 hematoxylin-eosin으로 염색한 간 조직 절편을 제작하여<sup>21</sup>, 광학현미경 (Eclipse 80i; Nikon, Tokyo, Japan)하에서 조직형태학적 분석을 수행하였다. 간 조직의 융합성 괴사 (confluent necrosis), 국소 용해성 괴사 (focal lytic necrosis), 세포자멸사 (apoptosis), 국소성 염증 (focal inflammation)과 간문맥 염증 (portal inflammation)에 따른 간 조직의 손상 정도는 modified histological activity index (HAI) scoring system에 근거하여 분석하였다<sup>22</sup>. 또한 간 실질세포 중 변성 간 실질세포의 수와 간 실질부에 침윤된 염증세포의 수는 선행 연구방법에 따라 이미지 분석 소프트웨어 (iSolution

FL ver 9.1, IMT Solution; Vancouver, Quebec, Canada)를 이용하여 측정하였다<sup>21,23)</sup>.

### 6. 간 조직의 지질과산화 측정

0.01 M Tris-HCl (pH 7.4)하에서 간조직을 bead beater (TacoPrep; GeneResearch Biotechnology, Taichung, Taiwan)와 초음파 파쇄기 (KS-750; Madell Technology, Ontario, CA, USA)로 파쇄하고, 12,000 ×g에서 15분간 원심분리하여 상층액에서 malondialdehyde의 함량을 기 확립된 선행 방법에 따라 정량하고<sup>21)</sup>, 간 조직 중 총 단백질 함량으로 보정하였다.

### 7. Glutathione (GSH) 함량, superoxide dismutase (SOD), catalase 활성 측정

간 조직 중 GSH 함량과 SOD 및 catalase의 비활성 (specific activity)은 기 확립된 선행 방법에 따라 측정하였다<sup>21)</sup>.

### 8. 통계적 검증

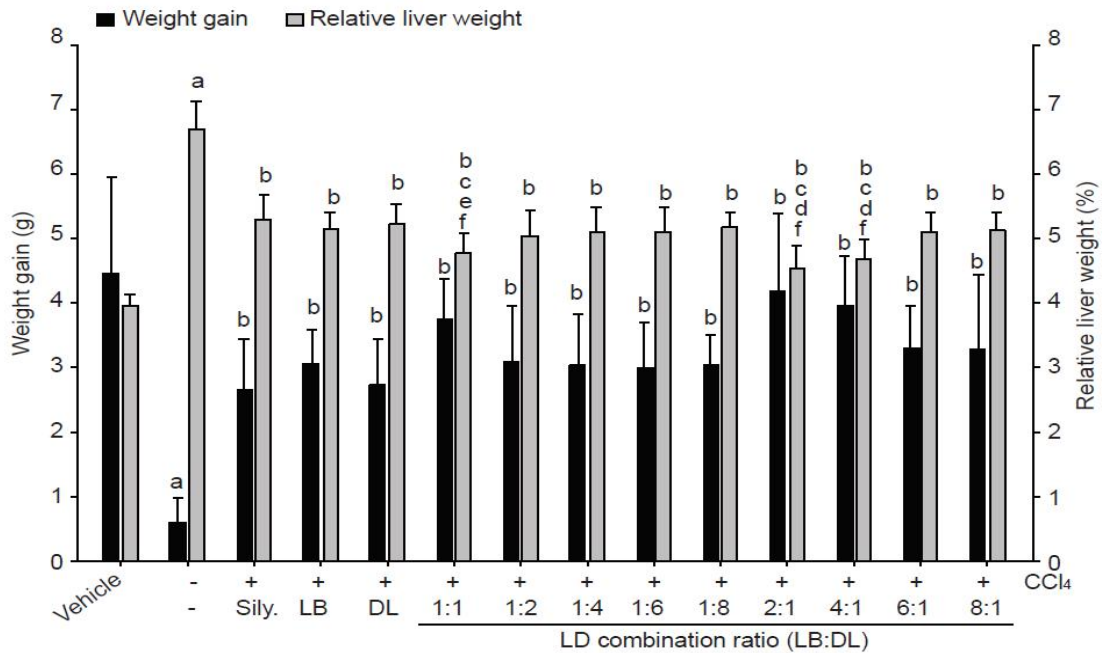
모든 결과는 mean ± SD로 표기하였으며, 각 그룹간 통계적 유의성은 일원배치 분산분석을 수행한 후, 등분산 가정의 성립 여부에 따라 Fisher's least significant difference test 또는 Dunnett T3 test로 사후 검정하였다. 각 그룹간 통계적 유의성은 P 값이 0.05 또는 0.01 미만을 기준으로 검정하였다.

## III. 실험 결과

### 1. CCl<sub>4</sub>에 의한 급성 간 손상 동물에서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 체중 및 간 상대중량에 미치는 영향

레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여에 따른 간 보호 효능을 연구하기 위하여 ICR mouse에 다양한 혼합 비율의 레몬밤/민들레 잎 추출물을 최종 200 mg/kg의 농도로 7일간 매일 1회씩 경구 투여하고, 마지막 시험물질 투여 한 시간 후에 0.5 mL/kg의 CCl<sub>4</sub>를 복강 투여하였다. 대조 약물로써 silymarin (100 mg/kg), 레몬밤 잎 추출물 단독 (200 mg/kg) 또는 민들레 잎 추출물 단독 (200 mg/kg)을 7일간 매일 경구 투여하였으며, CCl<sub>4</sub> 투여 24시간 후에 동

물을 희생하여 간과 혈액을 적출하였다. Vehicle, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + silymarin, CCl<sub>4</sub> + LB, CCl<sub>4</sub> + DL, CCl<sub>4</sub> + LD (1:1), CCl<sub>4</sub> + LD (1:2), CCl<sub>4</sub> + LD (1:4), CCl<sub>4</sub> + LD (1:6), CCl<sub>4</sub> + LD (1:8), CCl<sub>4</sub> + LD (2:1), CCl<sub>4</sub> + LD (4:1), CCl<sub>4</sub> + LD (6:1), CCl<sub>4</sub> + LD (8:1) 투여 전후의 체중 변화는 각각 4.46 ± 1.50, 0.59 ± 0.38, 2.66 ± 0.77, 3.06 ± 0.52, 2.73 ± 0.71, 3.75 ± 0.62, 3.09 ± 0.88, 3.04 ± 0.78, 2.99 ± 0.72, 3.03 ± 0.50, 4.18 ± 1.21, 3.95 ± 0.77, 3.29 ± 0.67, 3.28 ± 1.16 g 이었다. 선행 연구과 유사하게<sup>21)</sup>, CCl<sub>4</sub>의 투여는 vehicle 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 증체량의 감소를 나타내었다. 그러나, 모든 시험물질 투여 그룹에서는 CCl<sub>4</sub> 투여에 의한 체중 감소를 통계적으로 유의하게 억제하였으며, 레몬밤과 민들레 2:1 투여 그룹에서의 증체량의 증가가 가장 우수하였다. 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여에 따른 증체량의 변화는 silymarin, 레몬밤 잎 추출물 단독, 또는 민들레 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 인정되지 않았다 (Figure 1). Vehicle, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + silymarin, CCl<sub>4</sub> + LB, CCl<sub>4</sub> + DL, CCl<sub>4</sub> + LD (1:1), CCl<sub>4</sub> + LD (1:2), CCl<sub>4</sub> + LD (1:4), CCl<sub>4</sub> + LD (1:6), CCl<sub>4</sub> + LD (1:8), CCl<sub>4</sub> + LD (2:1), CCl<sub>4</sub> + LD (4:1), CCl<sub>4</sub> + LD (6:1), CCl<sub>4</sub> + LD (8:1) 투여에 따른 간 상대중량의 변화는 각각 3.96 ± 0.16, 6.70 ± 0.42, 5.30 ± 0.37, 5.15 ± 0.27, 5.21 ± 0.30, 4.76 ± 0.31, 5.02 ± 0.41, 5.10 ± 0.38, 5.10 ± 0.38, 5.17 ± 0.25, 4.53 ± 0.37, 4.67 ± 0.30, 5.10 ± 0.29, 5.12 ± 0.30% 이었다. 선행 연구과 유사하게<sup>21)</sup>, CCl<sub>4</sub>의 투여는 vehicle 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 간 상대중량을 증가시켰다. 모든 시험물질 투여 그룹에서는 CCl<sub>4</sub> 투여에 의하여 증가한 간 상대중량을 통계적으로 유의하게 감소시켰으며, 레몬밤과 민들레 2:1 투여 그룹에서 가장 우수한 간 상대중량의 감소를 나타내었다. 특히, 레몬밤과 민들레 잎 추출물을 1:1, 1:2, 1:4의 혼합 비율로 투여한 그룹에서의 간 상대중량은 silymarin 투여 그룹, 레몬밤 잎 추출물 단독, 또는 민들레 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 더욱 감소하였다 (Figure 1).



**Figure 1.** The effects of lemon balm and dandelion leaf extract combination on body weight gain and relative liver weight in CCl<sub>4</sub>-injected mice. Body weight gain (black bars) and relative liver weight (gray bars) were measured as described in method sections. All values are expressed as the mean  $\pm$  SD of eight mice (<sup>a</sup>*P* < 0.01 versus vehicle-treated group; <sup>b</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub>-treated group; <sup>c</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub> + silymarin-treated group; <sup>d</sup>*P* < 0.01, <sup>e</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + LB-treated group; <sup>f</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub> + DL-treated group). Sily., silymarin; LB, lemon balm leaf extract; DL, dandelion leaf extract; LD, lemon balm and dandelion leaf extract.

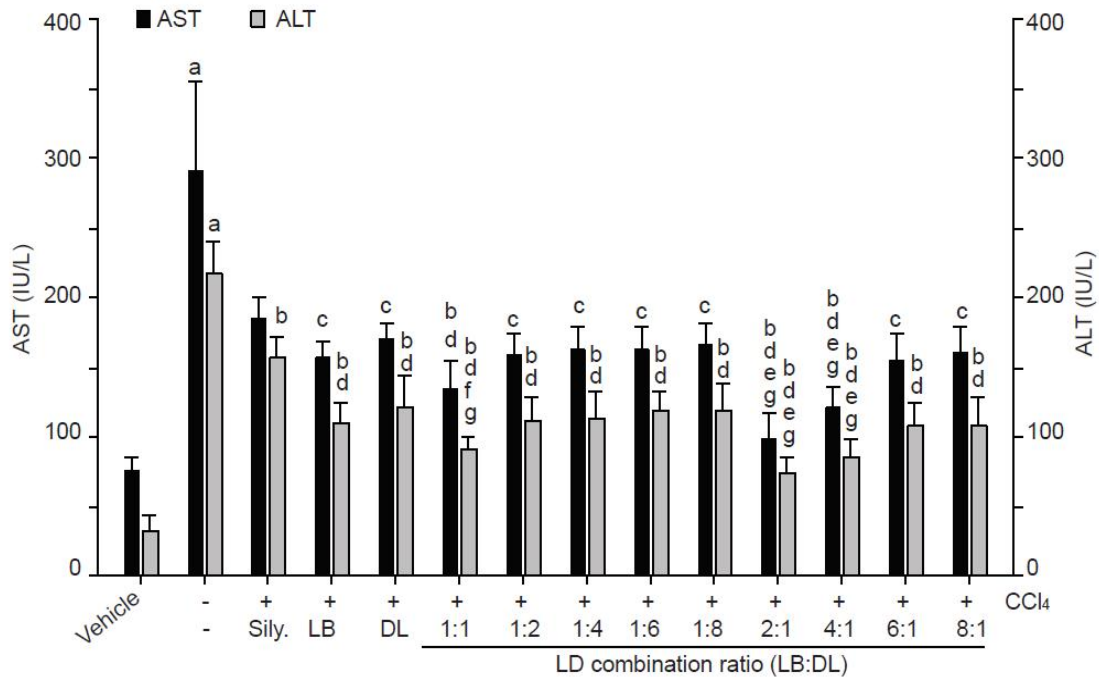
## 2. CCl<sub>4</sub>에 의한 급성 간 손상 동물에서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 AST와 ALT 활성에 미치는 영향

Vehicle, CCl<sub>4</sub>, CCl<sub>4</sub> + silymarin, CCl<sub>4</sub> + LB, CCl<sub>4</sub> + DL, CCl<sub>4</sub> + LD (1:1), CCl<sub>4</sub> + LD (1:2), CCl<sub>4</sub> + LD (1:4), CCl<sub>4</sub> + LD (1:6), CCl<sub>4</sub> + LD (1:8), CCl<sub>4</sub> + LD (2:1), CCl<sub>4</sub> + LD (4:1), CCl<sub>4</sub> + LD (6:1), CCl<sub>4</sub> + LD (8:1) 투여에 따른 혈 중 AST 활성의 변화는 각각 74.75  $\pm$  11.21, 291.25  $\pm$  64.49, 184.25  $\pm$  16.47, 157.50  $\pm$  10.42, 169.13  $\pm$  12.83, 134.88  $\pm$  19.53, 159.00  $\pm$  15.00, 162.38  $\pm$  16.45, 163.00  $\pm$  16.15, 165.88  $\pm$  15.73, 98.00  $\pm$  19.71, 120.25  $\pm$  14.95, 155.13  $\pm$  18.73, 161.13  $\pm$  18.28 IU/L였으며, ALT 활성의 변화는 각각 32.88  $\pm$  10.52, 217.50  $\pm$  22.71, 157.50  $\pm$  14.88, 109.75  $\pm$  15.69, 120.75  $\pm$  22.15, 90.50  $\pm$  10.24, 110.88  $\pm$  18.19, 113.50  $\pm$

18.44, 118.75  $\pm$  13.39, 119.88  $\pm$  18.19, 73.38  $\pm$  11.22, 85.63  $\pm$  12.66, 107.50  $\pm$  16.45, 108.25  $\pm$  20.12 IU/L였다. 선행 연구와 유사하게<sup>21)</sup>, CCl<sub>4</sub>의 투여는 혈 중 AST와 ALT 활성을 vehicle 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 증가시켰다. CCl<sub>4</sub> + silymarin 투여 그룹의 AST 활성은 CCl<sub>4</sub> 그룹과 비교하여 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의하지 않았다. 그러나, 7일 동안의 레몬밤 잎 추출물 단독, 민들레 잎 추출물 단독과 레몬밤과 민들레 잎 혼합 추출물 투여 그룹의 AST 활성은 CCl<sub>4</sub>에 의하여 증가한 AST 활성을 통계적으로 유의하게 감소시켰다. 특히, 레몬밤과 민들레 2:1 투여 그룹에서 가장 낮은 AST 활성을 나타내었다. 레몬밤과 민들레 잎 추출물을 1:1, 1:2, 1:4의 혼합 비율로 투여한 그룹은 AST 활성을 silymarin 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 더욱 감소시켰으며, 1:2, 1:4의 혼합 비율로 투여한 그룹의 AST 활성은 레몬밤 잎

추출물 단독, 또는 민들레 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소하였다. 또한 모든 레몬밤 잎 추출물과 민들레 잎 추출물의 단독 또는 혼합 투여 그룹에서는 CCl<sub>4</sub>에 의하여 증가한 ALT 활성을 통계적으로 유의하게 감소시켰으며, 레몬밤과 민들레 2:1 투여 그룹에서 가장 낮은 ALT 활

성을 나타내었다. Silymarin 투여 그룹과 비교하여 모든 레몬밤과 민들레 잎 추출물 투여 그룹에서의 ALT 활성의 감소는 통계적으로 유의하였으며, 각 단독 추출물 그룹의 ALT 활성과 비교하여 1:1, 1:2, 1:4의 혼합 비율로 투여한 그룹의 ALT 활성 감소는 통계적으로 유의하였다. (Figure 2).



**Figure 2.** The effects of lemon balm and dandelion leaf extract combination on liver function in CCl<sub>4</sub>-injected mice. Serum AST (black bars) and ALT (gray bars) activities were measured using an automated blood chemistry analyzer. All values are expressed as the mean  $\pm$  SD of eight mice (<sup>a</sup>*P* < 0.01 versus vehicle-treated group; <sup>b</sup>*P* < 0.01, <sup>c</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub>-treated group; <sup>d</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub> + silymarin-treated group; <sup>e</sup>*P* < 0.01, <sup>f</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + LB-treated group; <sup>g</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub> + DL-treated group). Sily., silymarin; LB, lemon balm leaf extract; DL, dandelion leaf extract; LD, lemon balm and dandelion leaf extract.

### 3. CCl<sub>4</sub>에 의한 급성 간 손상 동물에서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 간 조직의 형태학적 변화에 미치는 영향

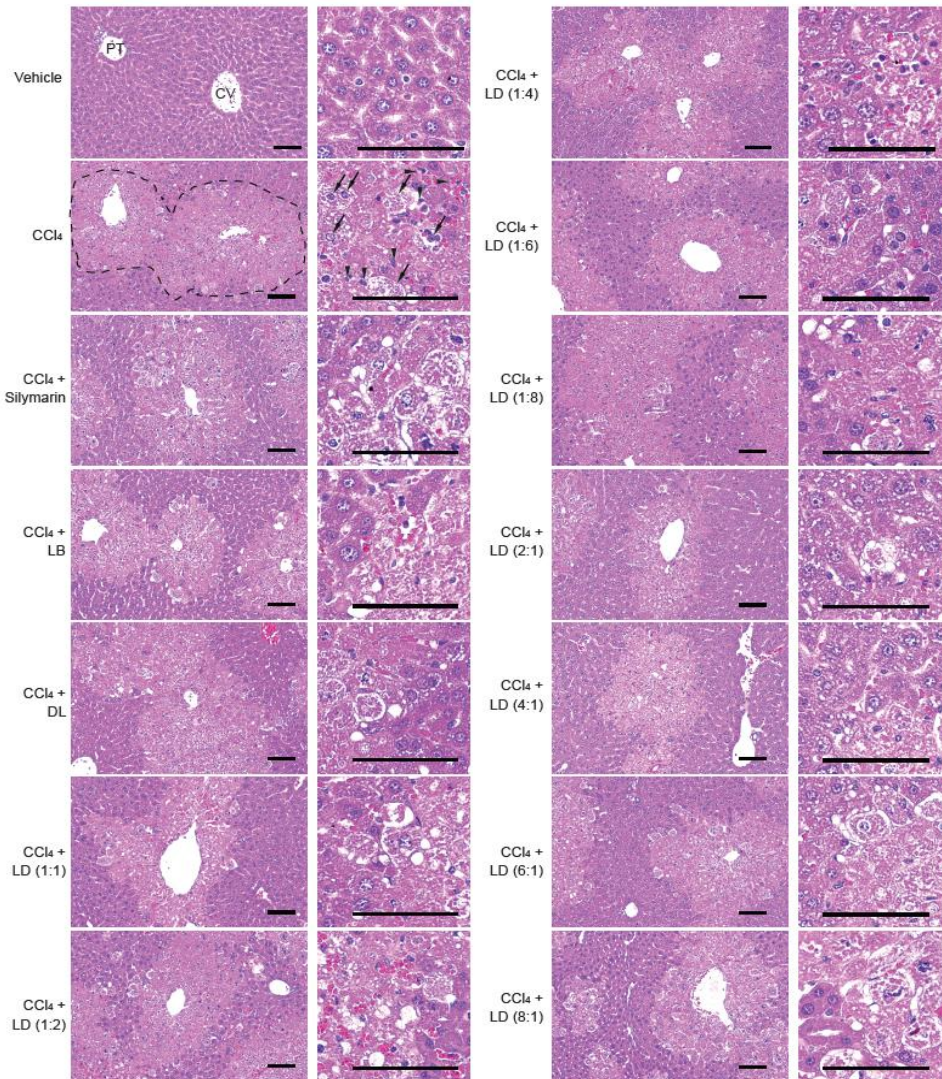
Hematoxylin-eosin으로 염색한 간 조직에 대한 조직병리학적 검경 결과, CCl<sub>4</sub> 투여는 간 실질세포의 변성과 염증세포의 침윤에 따른 소엽 중심성 괴사가 관찰되었으며, 이와 관련된 HAI score, 변성간질세포의 수 및 간 실질부에 침윤된 염증세포의 수를 통계적으로 유의하게 증가시켰다. 그러나, 이와 같은

소엽 중심성 괴사는 7일 동안의 silymarin 단독, 레몬밤 잎 추출물 단독, 민들레 잎 추출물 단독과 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여에 의하여 통계적으로 유의하게 감소되었다. 특히, 레몬밤과 민들레 2:1 투여 그룹에서 소엽 중심성 괴사에 따른 모든 조직 병리학적 지표들의 감소가 가장 우수하였다. Silymarin 투여 그룹과 비교하여 레몬밤과 민들레 잎 추출물 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 투여 그룹에서의 HAI score의 감소, 1:1, 2:1, 4:1 투여



그룹에서의 변성 간 실질세포의 수와 침윤된 염증세포의 수 감소가 통계적으로 유의하였다. 레몬밤 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 HAI score의 감소, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 변성 간 실질세포의 수 감소와 2:1 투여 그룹에서의 침윤된 염증세포의 수 감소가

통계적으로 유의하였으며, 민들레 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 HAI score의 감소, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 변성 간 실질세포의 수와 침윤된 염증세포의 수 감소가 통계적으로 유의하였다 (Figure 3 and Table 1).



**Figure 3.** Histopathological analysis. The liver tissues were stained with hematoxylin and eosin, and observed under a microscope  $\times 100$  (left) or  $\times 400$  (right) magnification. Area with dashed line, arrows, and arrow heads indicate the representative degenerated region, degenerated hepatocytes, and inflammatory cells, respectively. Scale bars indicate  $120 \mu\text{m}$ . CV, central vein; PT, portal triad; LB, lemon balm leaf extract; DL, dandelion leaf extract; LD, lemon balm and dandelion leaf extract.

**Table 1.** The effects of dandelion and lemon balm leaf extract combination on CCl<sub>4</sub>-mediated liver injuries.

	HAI score	Degenerated hepatocytes (Number/1,000 hepatocytes)	Infiltrated inflammatory cells (Number/mm <sup>2</sup> )
Vehicle	0.25 ± 0.46	2.88 ± 15.02	21.13 ± 10.97
CCl <sub>4</sub>	8.50 ± 1.07 <sup>a</sup>	765.13 ± 120.37 <sup>a</sup>	204.75 ± 52.48 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub> + Silymarin	5.00 ± 1.19 <sup>b</sup>	508.88 ± 107.33 <sup>c</sup>	91.63 ± 12.73 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> + LB	4.13 ± 0.83 <sup>b</sup>	438.00 ± 96.03 <sup>b</sup>	70.00 ± 12.65 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + DL	4.50 ± 0.93 <sup>b,d</sup>	482.75 ± 112.57 <sup>c,e</sup>	80.13 ± 18.38 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:1)	2.50 ± 0.93 <sup>b,f,g</sup>	295.75 ± 66.28 <sup>b</sup>	48.63 ± 10.91 <sup>b,d</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:2)	4.00 ± 1.07 <sup>b</sup>	448.63 ± 106.92 <sup>b</sup>	72.75 ± 12.74 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:4)	4.25 ± 1.39 <sup>b</sup>	455.00 ± 122.44 <sup>c</sup>	76.13 ± 12.31 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:6)	4.38 ± 1.19 <sup>b</sup>	474.25 ± 118.03 <sup>c</sup>	75.88 ± 14.26 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:8)	4.50 ± 1.20 <sup>b</sup>	488.38 ± 126.58 <sup>c</sup>	77.13 ± 10.67 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (2:1)	1.50 ± 0.53 <sup>b,d,f,g</sup>	194.13 ± 49.75 <sup>b,d,f,g</sup>	33.63 ± 11.44 <sup>b,d,f,g</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (4:1)	2.13 ± 0.64 <sup>b,d,f,g</sup>	260.63 ± 62.13 <sup>b,d,f,h</sup>	43.88 ± 12.19 <sup>b,d,h</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (6:1)	3.75 ± 1.49 <sup>b,e</sup>	410.25 ± 169.45 <sup>c</sup>	67.50 ± 15.33 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (8:1)	3.62 ± 1.41 <sup>b,e</sup>	407.88 ± 137.03 <sup>b</sup>	69.25 ± 16.85 <sup>b</sup>

All values are expressed as the mean ± SD of eight mice (<sup>a</sup>*P* < 0.01 versus vehicle-treated group; <sup>b</sup>*P* < 0.01, <sup>c</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub>-treated group; <sup>d</sup>*P* < 0.01, <sup>e</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + silymarin-treated group; <sup>f</sup>*P* < 0.01 versus CCl<sub>4</sub> + LB-treated group; <sup>g</sup>*P* < 0.01, <sup>h</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + DL-treated group). LB, lemon balm leaf extract; DL, dandelion leaf extract; LD, lemon balm and dandelion leaf extract.

#### 4. CCl<sub>4</sub>에 의한 급성 간 손상 동물에서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 간 조직 내 산화적 스트레스에 미치는 영향

CCl<sub>4</sub>는 간 조직 내 항산화능의 저하를 통한 산화적 스트레스를 유도하여 간을 손상시킨다<sup>25,27</sup>. 따라서 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 CCl<sub>4</sub>에 의하여 유도된 산화적 스트레스를 억제하여 간 보호 효능을 나타내는지 규명하기 위하여 산화적 스트레스 관련 지표들의 변화를 연구하였다. 선행 연구와 유사하게<sup>21</sup>, CCl<sub>4</sub>의 투여는 간 조직 내 지질과산화물을 통한 malondialdehyde의 함량을 증가시키고, 항산화능의 유지와 관련된 GSH 함량과 SOD와 catalase의 활성을 vehicle 투여 그룹과 비교하여 통계적으로 유의하게 감소시켰다. Silymarin 단독, 레몬밤 잎 추출물 단독, 민들레 잎 추출물 단독과 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여는 CCl<sub>4</sub>에 의한 malondialdehyde의 증가와 GSH와 SOD 활성 감소를 통계적으로 유의하게 감소시켰다. 모든 투여 그룹에서 CCl<sub>4</sub>에 의하여 감소한 catalase 활성을 증가시켰으나, 민들레 잎 추출물 단독 투여에 의한 catalase 활성의 증가는 CCl<sub>4</sub> 투여 그룹과 비교하여 통계적 유의성은 없었다.

Silymarin 투여와 비교하여 레몬밤 잎 추출물 단독, 레몬밤과 민들레 잎 추출물 혼합 비율 1:1, 1:2, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 투여 그룹에서 malondialdehyde 함량의 감소, 레몬밤 잎 추출물 단독, 레몬밤과 민들레 잎 추출물 혼합 비율 1:1, 1:2, 1:4, 1:6 2:1, 4:1, 8:1 투여 그룹에서의 GSH 증가, 레몬밤과 민들레 잎 추출물 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 SOD와 catalase 활성 증가가 통계적으로 유의하였다. 레몬밤 잎 단독 투여 그룹과 비교하여 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 malondialdehyde의 감소, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 SOD 활성 증가 및 2:1의 투여 그룹에서의 CAT 활성 증가가 통계적으로 유의하였다. 민들레 잎 단독 투여 그룹과 비교하여 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 malondialdehyde의 감소와 SOD 활성 증가, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 GSH 증가가 통계적으로 유의하였다. 특히, 항산화능과 관련된 모든 지표에서 레몬밤과 민들레 2:1 투여에 의한 malondialdehyde 감소와 GSH, SOD 및 catalase 활성의 증가가 가장 우수하였다 (Table 2).



**Table 2.** The effect of dandelion and lemon balm leaf extract combination on hepatic antioxidant system in CCl<sub>4</sub>-injected mice.

	Lipid peroxidation (nM MDA/mg protein)	GSH contents (nM/mg protein)	SOD activity (U/mg protein)	Catalase activity (U/mg protein)
Vehicle	1.74 ± 0.96	47.56 ± 13.09	467.54 ± 88.71	259.02 ± 81.43
CCl <sub>4</sub>	8.88 ± 1.62 <sup>a</sup>	3.73 ± 1.34 <sup>a</sup>	48.35 ± 21.51 <sup>a</sup>	47.46 ± 10.51 <sup>a</sup>
CCl <sub>4</sub> + silymarin	6.03 ± 0.91 <sup>b</sup>	17.76 ± 2.70 <sup>b</sup>	173.39 ± 34.64 <sup>b</sup>	132.93 ± 27.55 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LB	4.72 ± 0.56 <sup>b,d</sup>	26.98 ± 4.44 <sup>b,e</sup>	227.20 ± 35.57 <sup>b</sup>	166.33 ± 21.39 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + DL	5.23 ± 0.83 <sup>b</sup>	22.56 ± 6.59 <sup>b</sup>	204.30 ± 27.49 <sup>b</sup>	140.33 ± 37.26
CCl <sub>4</sub> + LD (1:1)	3.69 ± 0.43 <sup>b,d,g,h</sup>	33.69 ± 5.26 <sup>b,d</sup>	282.36 ± 31.64 <sup>b,d,h</sup>	192.20 ± 14.75 <sup>b,e</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:2)	4.88 ± 0.81 <sup>b,e</sup>	27.84 ± 6.18 <sup>b</sup>	225.81 ± 31.38 <sup>b</sup>	162.65 ± 19.84 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:4)	5.10 ± 1.12 <sup>b</sup>	26.82 ± 4.23 <sup>b,e</sup>	217.17 ± 34.70 <sup>b</sup>	161.88 ± 37.30 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:6)	5.45 ± 1.28 <sup>b</sup>	26.78 ± 3.27 <sup>b,d</sup>	208.31 ± 40.47 <sup>b</sup>	153.01 ± 49.17 <sup>c</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (1:8)	5.56 ± 1.39 <sup>b</sup>	25.81 ± 6.37 <sup>b</sup>	205.05 ± 21.08 <sup>b</sup>	148.73 ± 33.97 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (2:1)	2.81 ± 0.38 <sup>b,d,f,h</sup>	37.71 ± 5.66 <sup>b,d,i</sup>	361.83 ± 35.60 <sup>b,d,f,h</sup>	251.16 ± 43.93 <sup>b,d,g</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (4:1)	3.58 ± 0.62 <sup>b,d,g,h</sup>	35.94 ± 5.48 <sup>b,d,i</sup>	328.29 ± 63.76 <sup>b,d,f,h</sup>	206.65 ± 21.07 <sup>b,d</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (6:1)	4.80 ± 0.77 <sup>b,e</sup>	27.30 ± 6.82 <sup>b</sup>	232.49 ± 42.82 <sup>b</sup>	170.81 ± 47.19 <sup>b</sup>
CCl <sub>4</sub> + LD (8:1)	4.57 ± 1.12 <sup>b,d</sup>	26.28 ± 3.72 <sup>b,e</sup>	230.25 ± 58.84 <sup>b</sup>	166.51 ± 38.29 <sup>b</sup>

All values are expressed as the mean ± SD of eight mice (<sup>a</sup>*P* < 0.01 versus vehicle-treated group; <sup>b</sup>*P* < 0.01, <sup>c</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub>-treated group; <sup>d</sup>*P* < 0.01, <sup>e</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + silymarin-treated group; <sup>f</sup>*P* < 0.01, <sup>g</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + LB-treated group; <sup>h</sup>*P* < 0.01, <sup>i</sup>*P* < 0.05 versus CCl<sub>4</sub> + DL-treated group). LB, lemon balm leaf extract; DL, dandelion leaf extract; LD, lemon balm and dandelion leaf extract; MDA, malondialdehyde.

#### IV. 고찰

CCl<sub>4</sub>는 투여 용량 및 기간에 따라 다양한 급만성 간질환을 유도할 수 있는 유기용매로써 설치류에서 간 보호 효능을 갖는 후보물질들을 탐색하기 위하여 사용되는 대표적인 간 독성 유발 물질 중 하나이다<sup>21,23</sup>. 본 연구에서는 레몬밤과 민들레 잎 혼합 조성을 신규 급만성 간질환 개선을 위한 食醫藥 소재로 발굴하기 위하여 혼합 비율에 따른 간 보호 효능을 CCl<sub>4</sub> 유도성 급성 간 손상 모델에서 silymarin의 효능과 비교하여 연구하였으며, 본 연구를 통하여 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 투여가 CCl<sub>4</sub>에 의하여 나타나는 급성 간 손상의 지표 (증체량, GSH, SOD 및 catalase 활성의 감소와 간상대증량비, 혈액 중 AST와 ALT 활성, HAI score, 변성 간 실질세포 수, 침윤된 염증세포의 수 및 malondialdehyde의 증가)들을 개선할 수 있음을 규명하였다. 특히, silymarin, 레몬밤 잎 추출물 단독 및 민들레 잎 추출물 단독의 효능과 비교하여 2:1 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물 투여가 더욱

우수한 간 보호 효능을 가지고 있음을 제시하였다.

레몬밤에는 geranial (citral a), neral (citral b), citronellal, linalool, geraniol 및 β-caryophyllene oxide 등의 정유 성분과 rosmarinic acid, gallic acid, catechin, luteolin, hesperidin, ursolic acid, oleanolic acid 등의 flavonoid와 polyphenol 화합물을 주요 성분으로 함유하고 있으며<sup>24,25</sup>, 이중 rosmarinic acid가 레몬밤의 다양한 질병 치료 효능에 있어 주요한 역할을 담당하는 대표적인 효능/지표 물질로써 제시되었다<sup>5,26</sup>. 특히 rosmarinic acid는 간 실질세포에서 nuclear factor E2-related factor 2 (Nrf2)의 활성화를 통하여 산화적 스트레스를 억제하고<sup>27</sup>, hepatitis B virus의 증식을 억제하며<sup>28</sup>, 알코올과 thioacetamide에 의하여 유도되는 급만성 간손상을 억제할 수 있음이 규명되었다<sup>29,30</sup>.

민들레에는 chicoric acid, lutein, violaxanthin, taraxasterol, taraxerol, arnidiol, lutein, flavoxanthin, plastoquinone, desacetylmarticanin을 포함한 다양한 polyphenol과 flavonoid 화합물을 함유하고 있으며, 이중 chicoric acid가 가장 많은 함량으로 포함되어 있다<sup>31,32</sup>. Chicoric acid (dicaffeoyltartaric

acid)는 간 실질세포에서 hepatitis B virus의 증식을 억제하고<sup>33)</sup>, Bmal1 유도를 통하여 유리지방산에 의한 지질축적을 억제할 수 있음이 규명되었다<sup>34)</sup>. 또한 실험동물 모델에서 알코올 및 메티오닌/콜린 결핍에 의한 지방간과 간섬유화를 억제하였다<sup>35,36)</sup>. 따라서, 레몬밤과 민들레 잎 추출물에 함유된 rosmarinic acid와 chicoric acid가 상승적으로 간 보호 효능을 나타낸 것으로 추정되나, 간 보호 효능에 관련된 유효/지표성분의 규명과 관련된 후속연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여가 CCl<sub>4</sub>에 의하여 증가한 산화적 스트레스와 염증세포의 침윤을 완화할 수 있음을 확인하였다. 더불어 레몬밤과 민들레 추출물은 Nrf2의 활성화를 통하여 산화적 스트레스로부터 조직을 보호할 수 있음이 보고되었다<sup>27,36,37)</sup>. 휴지상태에서 세포질에 존재하는 Nrf2는 kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1)과 결합하여 ubiquitin 의존적 proteasome 시스템에 의하여 지속적으로 분해되고 있다. 산화적 스트레스 및 항산화제는 Nrf2-Keap1 사이의 단백질-단백질 상호작용을 저해하여 Nrf2를 유리시켜 핵 내 이동을 촉진한다. 핵으로 이동한 Nrf2는 Jun 또는 small Maf와 이형이량체 (heterodimer)를 형성하여 산화적 스트레스에 저항하는 유전자 (예, SOD, catalase와 GSH 생합성에 관여하는  $\gamma$ -glutamate cystein ligase)들의 promoter 영역에 전재하는 antioxidant response element에 결합하여 전사를 촉진한다<sup>38)</sup>. 또한 Nrf2는 염증세포에서 전염증성 싸이토카인의 생성을 직접 조절하여 염증반응을 억제할 수 있음이 규명되었다<sup>39)</sup>. 따라서, 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 혼합 투여에 의한 간 보호 활성은 Nrf2-Keap1 의존적 항산화 시스템의 활성 증가를 통하여 CCl<sub>4</sub>에 의하여 손상되는 간 실질세포의 수를 줄임으로써 손상받은 간 실질세포로부터 유리된 물질에 의한 염증세포의 침윤을 줄이는 효과와 더불어 침윤된 염증세포에서의 염증반응을 직접 억제하여 나타나는 것으로 생각되며, 약리 기전과 관련된 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결론

본 연구에서는 CCl<sub>4</sub>로 유도한 간 손상 모델에서 다

양한 혼합 비율의 레몬밤 잎 추출물과 민들레 잎 추출물의 투여에 의한 간 보호 효능을 대조약물인 silymarin, 레몬밤 잎 추출물 또는 민들레 잎 추출물 단독 투여 그룹과 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 7일 동안의 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 투여는 CCl<sub>4</sub>에 의한 증체량의 감소와 간 상대중량의 증가를 통계적으로 유의하게 억제하였으며, 이중 레몬밤과 민들레 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1의 투여는 silymarin, 레몬밤 단독, 민들레 단독 투여 그룹보다 간 상대중량을 더욱 감소시켰다.
2. 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 투여는 CCl<sub>4</sub>에 의한 혈액 내 AST와 ALT 활성의 증가를 통계적으로 유의하게 억제하였다. AST 활성에 있어 silymarin 투여 그룹과 비교하였을 때 레몬밤과 민들레 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹, 레몬밤 단독 또는 민들레 단독 투여 그룹과 비교하였을 때 혼합 비율 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 효소 활성 감소가 통계적으로 유의하였다. ALT 활성에 있어 silymarin 투여 그룹과 비교하였을 때 모든 혼합 비율 투여 그룹, 레몬밤 단독 또는 민들레 단독 투여 그룹과 비교하였을 때 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여 그룹에서의 효소 활성 감소가 통계적으로 유의하였다.
3. 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 투여는 CCl<sub>4</sub>에 의하여 증가한 HAI score, 변성 간 실질세포의 수 및 침윤된 염증세포의 수를 통계적으로 유의하게 감소시켰다. 이중 레몬밤과 민들레 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 투여에 따른 HAI score의 변화와 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1의 투여에 따른 변성 간 실질세포의 수와 침윤된 염증세포의 수는 silymarin 투여 그룹보다 더욱 감소하였다. 더불어 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여에 따른 HAI score의 변화, 2:1, 4:1 투여에 따른 변성 간 실질세포의 수, 2:1 투여에 따른 염증세포의 수는 레몬밤과 민들레 단독 투여 그룹보다 더욱 감소하였다.
4. 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물의 투여는 CCl<sub>4</sub>에 의한 malondialdehyde의 증가와 GSH, SOD 및 catalase 활성 감소를 통계적으로 유의하게 억제하였다. 레몬밤과 민들레 혼합 비율 1:1, 1:2, 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 투여는 간 조직 내



malondialdehyde를 silymarin 투여 그룹보다 더욱 감소시켰다. 더불어 혼합 비율 1:1, 1:4, 1:6, 2:1, 4:1, 8:1 투여는 silymarin 투여 그룹보다 GSH 함량을 더욱 증가시켰으며 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여는 SOD와 catalase 활성을 더욱 증가시켰다. 또한 혼합 비율 1:1, 2:1, 4:1 투여에 따른 malondialdehyde 함량, 2:1, 4:1 투여에 따른 SOD 활성 변화는 레몬밤과 민들레 단독 투여 그룹보다 더욱 우수하였다.

따라서 이상의 결과를 통하여 다양한 혼합 비율의 레몬밤과 민들레 잎 추출물은 CCl<sub>4</sub>에 의하여 유도된 산화적 스트레스를 억제하여 간 조직을 보호하는 효능이 있음을 확인하였으며, 이중 레몬밤과 민들레를 2:1의 비율로 혼합한 추출물의 간 보호 효능이 가장 우수함을 제시하였다. 다양한 후속 연구가 지속적으로 이루어진다면 레몬밤과 민들레 추출물이 포함된 복합제제를 급만성 간질환 치료 및 예방을 위한 신규 食醫藥 소재로써 개발할 수 있을 것으로 생각된다.

### 감사의 글

본 연구는 2019년도 한국연구재단 (2018R1A5A2025272)의 연구개발비 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### References

- Cichoż-Lach H, Michalak A. Oxidative stress as a crucial factor in liver diseases. *World J Gastroenterol.* 2014;20:8082-91.
- Abenavoli L, Izzo AA, Milić N, Cicala C, Santini A, Capasso R. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. *Phytother Res.* 2018;32:2202-13.
- Scholey A, Gibbs A, Neale C, Perry N, Ossoukhova A, Bilog V, et al. Anti-stress effects of lemon balm-containing foods. *Nutrients.* 2014;6:4805-21.
- Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2003;74:863-6.
- Kennedy DO, Scholey AB, Tildesley NT, Perry EK, Wesnes KA. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of *Melissa officinalis* (lemon balm). *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;72:953-64.
- Choi YS, Kim SJ, Yu YW, Rim YS, Hwang EH, Lee HJ, et al. Protective effect of lemon balm extract on cisplatin-induced cytotoxicity. *J Invest Cosmetol.* 2013;9:15-20.
- Kim J, Lee H, Lim J, Lee H, Yoon S, Shin SS, et al. The lemon balm extract ALS-L1023 inhibits obesity and nonalcoholic fatty liver disease in female ovariectomized mice. *Food Chem Toxicol.* 2017;106:292-305.
- Jun HJ, Lee JH, Jia Y, Hoang MH, Byun H, Kim KH, et al. *Melissa officinalis* essential oil reduces plasma triglycerides in human apolipoprotein E2 transgenic mice by inhibiting sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent fatty acid synthesis. *J Nutr.* 2012;142:432-40.
- Park BY, Lee H, Woo S, Yoon M, Kim J, Hong Y, et al. Reduction of adipose tissue mass by the angiogenesis inhibitor ALS-L1023 from *Melissa officinalis*. *PLoS ONE.* 2015;10:e0141612.
- Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. *J Ethnopharmacol.* 2005;99:391-8.
- Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School. *Herbology.* Seoul:Younglimsa. 2008:243-5.
- Seo K-J, Park K-M, Joh S-H, Yang S-J. Effects of *Taraxaci Herba* on cell death in breast cancer cells. *J Korean Obstet Gynecol.* 2015;28:1-14.

13. Sohn M-K, Shin Y-W. A comparative study of memory improving effects of Taraxaci herba on scopolamine-induced amnesia in mouse. Kor J Herbology. 2012;27:27-35.
14. Oh CH, Shin NS, Kwan J, Lee KG, Lee SR, Lee CH. Antidiabetic effect of water extract from *Taraxacum coreanum* Nakai in type II diabetic mice. Korean J Oriental Physiol Pathol. 2012;26:707-13.
15. Colle D, Arantes LP, Gubert P, da Luz SC, Athayde ML, Teixeira Rocha JB, et al. Antioxidant properties of *Taraxacum officinale* leaf extract are involved in the protective effect against hepatotoxicity induced by acetaminophen in mice. J Med Food. 2012;15:549-56.
16. Park CM, Cha YS, Youn HJ, Cho CW, Song YS. Amelioration of oxidative stress by dandelion extract through CYP2E1 suppression against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in Sprague-Dawley rats. Phytother Res. 2010 ;24:1347-53.
17. You Y, Yoo S, Yoon H-G, Park J, Lee Y-H, Kim S, et al. *In vitro* and *in vivo* hepatoprotective effects of the aqueous extract from *Taraxacum officinale* (dandelion) root against alcohol-induced oxidative stress. Food Chem Toxicol. 2010;48:1632-7.
18. Davaatseren M, Hur HJ, Yang HJ, Hwang J-T, Park JH, Kim H-J, et al. Dandelion leaf extract protects against liver injury induced by methionine- and choline-deficient diet in mice. J Med Food. 2013;16:26-33.
19. Davaatseren M, Hur HJ, Yang HJ, Hwang J-T, Park JH, Kim H-J, et al. *Taraxacum officinale* (dandelion) leaf extract alleviates high-fat diet-induced nonalcoholic fatty liver. Food Chem Toxicol. 2013;58:30-6.
20. Domitrović R, Jakovac H, Romić Z, Rahelić D, Tadić Z. Antifibrotic activity of *Taraxacum officinale* root in carbon tetrachloride-induced liver damage in mice. J Ethnopharmacol. 2010;130:569-77.
21. Choi B-R, Cho IJ, Jung S-J, Kim JK, Lee DG, Ku SK, et al. Protective effects of four types of Taraxaci Herba water extract on carbon tetrachloride-induced acute liver injuries in mice. Herb Formular Sci. 2019, in press.
22. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. J Hepatol. 1995;22:696-9.
23. Park SM, Kim SW, Jung EH, Ko HL, Im CK, Lee JR, et al. *Sipjeondaebo-tang* alleviates oxidative stress-mediated liver injury through activation of the CaMKK2-AMPK signaling pathway. Evid Based Complement Alternat Med. 2018;2018:8609285.
24. Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. *Melissa officinalis* L.-a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol. 2016;188:204-28.
25. Ravindran PN, Divakaran M, Pillai GS. Other herbs and spices: achiote to Szechuan pepper. In: Peter KV. Handbook of herbs and spices: Volume 2. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing. 2012:549-51.
26. Chen SG, Leu YL, Cheng ML, Ting SC, Liu CC, Wang SD, et al. Anti-enterovirus 71 activities of *Melissa officinalis* extract and its biologically active constituent rosmarinic acid. Sci Rep. 2017;7:12264.
27. Ding Y, Zhang Z, Yue Z, Ding L, Zhou Y, Huang Z, et al. Rosmarinic acid ameliorates H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in L02 cells through MAPK and Nrf2 pathways. Rejuvenation Res. 2019;22:289-98.
28. Tsukamoto Y, Ikeda S, Uwai K, Taguchi R, Chayama K, Sakaguchi T, et al. Rosmarinic acid is a novel inhibitor for Hepatitis B virus replication targeting viral epsilon RNA-polymerase interaction. PLoS One. 2018;13:e0197664.

29. Hasanein P, Seifi R. Beneficial effects of rosmarinic acid against alcohol-induced hepatotoxicity in rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2018;96:32-7.
30. El-Lakkany NM, El-Maadawy WH, Seif El-Din SH, Hammam OA, Mohamed SH, Ezzat SM, et al. Rosmarinic acid attenuates hepatic fibrogenesis via suppression of hepatic stellate cell activation/proliferation and induction of apoptosis. *Asian Pac J Trop Med.* 2017;10:444-53.
31. Schütz K, Kammerer DR, Carle R, Schieber A. Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2005;19:179-86.
32. Gu JH, Kim SR, Lee JW, Park MY, Choi JY, Kim JD. Mouse single oral dose toxicity test of *Taraxaci Herba* aqueous extracts. *Korean J Oriental Physiology & Pathology.* 2011;25:650-7.
33. Zhang HL, Dai LH, Wu YH, Yu XP, Zhang YY, Guan RF, et al. Evaluation of hepatocyteprotective and anti-hepatitis B virus properties of Cichoric acid from *Cichorium intybus* leaves in cell culture. *Biol Pharm Bull.* 2014;37:1214-20.
34. Guo R, Zhao B, Wang Y, Wu D, Wang Y, Yu Y, et al. Cichoric acid prevents free-fatty-acid-induced lipid metabolism disorders via regulating Bmal1 in HepG2 cells. *J Agric Food Chem.* 2018;66:9667-78.
35. Landmann M, Kanuri G, Spruss A, Stahl C, Bergheim I. Oral intake of chicoric acid reduces acute alcohol-induced hepatic steatosis in mice. *Nutrition.* 2014;30:882-9.
36. Kim M, Yoo G, Randy A, Kim HS, Nho CW. Chicoric acid attenuate a nonalcoholic steatohepatitis by inhibiting key regulators of lipid metabolism, fibrosis, oxidation, and inflammation in mice with methionine and choline deficiency. *Mol Nutr Food Res.* 2017;61:1600632.
37. Xu L, Yu Y, Sang R, Li J, Ge B, Zhang X. Protective effects of taraxasterol against ethanol-induced liver injury by regulating CYP2E1/Nrf2/HO-1 and NF- $\kappa$ B signaling pathways in mice. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:8284107.
38. Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, Cucullo L. NRF2 and NF- $\kappa$ B interplay in cerebrovascular and neurodegenerative disorders: Molecular mechanisms and possible therapeutic approaches. *Redox Biol.* 2019; 21:101059.
39. Kobayashi EH, Suzuki T, Funayama R, Nagashima T, Hayashi M, Sekine H, et al. Nrf2 suppresses macrophage inflammatory response by blocking proinflammatory cytokine transcription. *Nat Commun.* 2016;7:11624.