

한인진 추출물의 간질환모델에 대한 활성

이순복*¹ · 정 철¹ · 정성학¹ · 이선미¹ · 심성보² · 조태순¹

¹성균관대학교 약학대학, ²코오롱그룹 중앙연구소

Hepatoprotective Effects of Extracts from *Artemisia iwayomogi*

Soon-Bok LEE*¹, Cheol JEONG¹, Seong-Hak JEONG¹, Sun-Mee LEE¹,
Sung-Bo, SHIM² and Tai-Soon CHO¹

¹College of Pharmacy, Sung Kyun Kwan University,

²Kolon Group Central Research Institute

(Received April 9, 1997; accepted June 1, 1997)

Abstract – The hepatoprotective activity of six extracts (BE, EE, HH, PS-1, PS-2, KP) from *Artemisia iwayomogi* was investigated against experimentally produced hepatic damages. Silymarin, DDB and UDCA were used as reference compounds. Treatment with PS-1 extract reduced hepatic damages induced by CCl₄, acetaminophen and ANIT but it did not alter ethionine-induced hepatotoxicity. In addition, PS-1 extract showed a protective effect against chronic CCl₄-induced hepatotoxicity as well as liver regeneration. PS-2 and KP extracts exhibited significant antihepatotoxic effects on D-galactosamine-induced hepatitis. Treatment with EE extract inhibited ethionine-induced fatty liver. These data indicate that the PS-1 extract is the most hepatoprotective constituent and rationalize the traditional use of this plant in hepatobiliary disorders.

Keywords □ *Artemisia iwayomogi*, PS-1 extract, hepatic damages, hepatoprotective constituent

간장질환의 원인은 매우 다양한 것으로 알려져 있으며 병인학적으로 볼때 바이러스에 기인된 간질환, 약물(독성물질) 중독에 기인된 간질환, 담도기능부전에 의한 간질환 등으로 분류할 수 있으며, 이러한 간질환들은 간세포 파괴에 의한 해독능력저하와 담즙분비억제에 의한 독성물질 배설장애, 비타민 B₁, B₂, C의 흡수억제 및 축적저하에 의한 전신권태감, 소양감, 식욕부진, 피로, 권태 등의 임상증상을 나타낸다.

현재 세계적으로 여러 질환의 원인이 되는 스트레스로 인한 만성피로의 목표 손상 장기인 간에서 몇몇 화학적 간보호 약물을 제외하고는 특별한 간장 치료 및 예방약물이 거의 없고 더우기 근래 들어 우리나라에서도 간염, 간경화를 비롯한 각종 간질환에 대한 우려가 높아짐에 따라 시급한 치료제의 개발이 요구되고 있다.

한인진(*Artemisia iwayomogi*)은 우리나라 전역에서 볼수 있는 다년생 초본으로서 그 지상부를 건조 세절하여 이용한다. 보통 사철쭉(*Artemisia capillaris*)과 한인진을 인진호라 하여 혼용해서 사용하고 있으나, 본 연구에서는 한인진만을 실험재료로 하여 사용하였다. 동의보감에 의하면 한인진은 食則頭眩, 心胸不安, 頭汗出而, 身無汗, 腹滿, 小便不利

등의 증상이 있는 황달에 사용된다고 하였으며, 옛부터 간보호, 항염증, 해열 및 이뇨 목적으로 민간요법에서 주로 쓰여왔다. 한방에서는 황달의 치료에 山梔子, 茵陳蒿, 大黃을 복방하는 인진호탕을 사용하여 왔는데 근자에 이르러 대만(黃偉康와 巢亞豐, 1957)과 일본(菊谷豊彦, 1968)에서 인진호탕을 간염에 처방하여 치료 효과가 있음을 보고하였다.

한인진(*Artemisia iwayomogi*)의 이담성분으로는 esculetin-6-methylether와 esculetin-7-methylether가 함유되어 있으며 기타 다수의 정유성분이 인지되고 있으나 그 중에서도 가장 함량이 많은 것은 camphor임이 밝혀졌다(韓德龍과 金仁暉, 1973). 한편 사철쭉(*Artemisia capillaris*)의 구성성분으로는 terpenoids, chromones, poly ethylenes, flavonoids, coumarins, acids 및 phenols 등이 있으며, 眞下啓明 등(1963)은 이중 이담효과를 나타내는 capillarisin과 6,7-dimethyl-esculetin 성분을 분리하였으며, Yamahara 등(1982)은 일본산 인진호가 이담효과와 함께 항염, 진통, 이뇨작용이 있음을 보고하였고, Yoshinobu 등(1982)도 사염화탄소로 유발된 간독성에 인진호가 탁월한 간보호 효과를 나타내나 그 작용은 성분에 따라 매우 다르다고 하였으며, 김 등(1987)도 한인진에 의해 담즙분비 증가와 더불어 간장내 Na⁺, K⁺-ATPase 활성도 증가한다고 하였다.

* To whom correspondence should be addressed.

이와 같이 한인진은 간보호 효과를 가지고 있으므로 저자 등은 이에 관한 실험의 일환으로 한국산 인진호인 한인진을 물과 유기용매 층으로 분리하고 기존 유기용매 분획인 6,7-dimethylesculetin과 간활성을 비교한 결과 수층에서의 분획이 간보호 효과에 있어서 더 좋은 결과를 나타냄을 보여주었을 뿐 아니라 이는 양성대조(간장 치료제)인 UDCA (ursodeoxycholic acid) 보다도 더 효과가 좋았다. 또한 일반적으로 생약이 화학약품보다 부작용이 적다는 점을 고려해 볼 때 한인진의 간장약 개발은 더욱 의의있다고 생각되어진다.

따라서 저자 등은 *Artemisia iwayomogi*의 추출 분획중 어떤 분획이 간질환 치료제로서의 개발 가능성이 있는가를 여러가지 간장해 모델을 사용하여 양성대조물질과 비교하여 우수한 추출분획을 선정하고자 본 연구를 수행하였다.

실험방법

실험동물

실험동물로는 체중 200 g 내외의 Sprague-Dawley계 흰쥐와 체중 20-25 g 되는 ICR계 생쥐를 삼육실험동물연구소로부터 공급받아 항온, 항습이 유지되는 본 연구실 동물 사육실에서 일주일 이상 적응시킨 후, 일반상태를 관찰하여 외관상 건강한 동물을 선별하여 실험에 사용하였다. 실험동물의 사육환경은 12시간 간격의 인공조명(오전 8시 부터 오후 8시 까지), 조도 300-500 Lux, 23±1°C, 배기 10-18회/hr, 습도 55±5%의 조건하에서 polycarbonate 사육상자(W 280×L400×H180 mm)에 5마리씩 넣어 사육하였다.

시험물질

한인진 추출분획으로 사용한 KP, PS-1, PS-2, EE, HH 및 BE 분획은 코오롱 중앙 연구소로부터 제공 받은 물질로서, BE 분획은 인진속 중량의 5배량의 물을 넣고 6시간동안 80°C로 2회 추출한 후 여과, 감압농축하여 건조시킨 물질이며, EE 분획은 BE 분획 추출시의 물대신 에탄올을 사용하여 얻은 물질이었으며, 한인진 다당체분획인 PS-1은 BE 추출과정중 감압농축후 과량의 에탄올에 의한 침전 및 저온방치후 여과건조시킨 물질이며 PS-2는 EE 추출과정시의 초기추출후 PS-1 추출과정을 처음부터 전과정을 실시한 물질이다. KP 분획은 PS-1의 Sephadex 분획으로 PS-1을 만든 후 물로 용출하여 Sephadex column chromatography를 실시한 물질이며, HH 분획은 BE 분획의 여과감압농축 후 DCM(dichloromethane)층을 분리한 후 buthanol 층을 분리하고 물층을 감압농축하여 건조시킨 물질이다. 양성대조물질인 DDB는 dimethyl-4,4'-dimethoxy-5,6-,5',6'-dimethylene-dioxybiphenyl-2,2'-dicarboxylate로서 광동제약으로부터 제공 받았으며, UDCA 및 silymarin은 대웅제약으로부터 제공 받아 사용하였다.

CCl₄ 간장해

SD계 흰쥐 수컷에 CCl₄ (Wako Co., Japan): olive oil (Sigma Chemical Co., USA) 혼합액(1:4 v/v %)을 체중 100 g 당 0.2 ml씩 복강내 투여하고 48시간후에 ether 마취하에 개복하여 복부대동맥에서 채혈하여 원심분리한 후 혈청을 취하여 ALT(alanine aminotransferase) 및 AST(aspartate aminotransferase) 활성을 ALT 및 AST-kit(Sigma Chemical Co., USA)를 사용해서 측정하였다.

각 약물은 16~18시간 절식후 CCl₄혼합액 투여 4시간전 및 투여 6시간후 1% carboxymethyl cellulose-Na(이하 CMC) 용액에 현탁시켜 경구투여하였으며, 1회 투여시 양성대조 물질인 UDCA 및 silymarin의 용량은 각 25 mg/kg로 경구 투여하였다. PS-1 분획의 용량반응 예비실험을 통하여 300 mg/kg을 경구투여시 ALT와 AST가 유의적으로 감소되었으므로, 한인진 추출분획인 KP, PS-1, PS-2, EE, HH, BE 등의 용량은 한인진 원료를 수침하여 얻은 BE의 수득률을 기준으로 하여 추출 수득률에 따른 비율로 환산하여 각각 180, 300, 500, 640, 1500 mg/kg로 하여 경구투여하였다.

D-Galactosamine 간염

SD계 수컷 흰쥐에 생리식염수에 용해시킨 D-galactosamine · HCl(Sigma Chemical Co., USA)을 650 mg/kg씩 복강내 투여하고 24시간 경과후 ether 마취하에 개복하여 복부대동맥으로부터 혈액을 얻어 원심분리하여 혈청을 취해서 ALT 및 AST 활성을 측정하였다. 1회 투여시 DDB 및 silymarin의 용량은 각각 37.5 및 25 mg/kg로 하고, 한인진 추출 분획인 KP, PS-1, PS-2, EE, HH, BE 등의 용량 및 투여 방법은 CCl₄ 실험항목에서와 동일하게 2회 경구투여하였다.

담즙을체

SD계 수컷 흰쥐에 ANIT(α -naphthylisothiocyanate; Sigma Chemical Co., USA) 100 mg을 olive oil 1 ml에 현탁시켜 80 mg/kg씩 경구투여하였다. ANIT 투여전 2시간, 투여 후 6, 22, 28시간 간격으로 CMC에 현탁시킨 약물을 4회 경구투여하였다. ANIT 투여후 47시간 후에 1시간 동안 담즙을 채취하여 담즙배출량으로 산출하였으며, 48시간째 복부대동맥에서 채혈하여 혈청내 총bilirubin량을 bilirubin-kit(아산제약)로 측정하였고, 담즙중 담즙산량도 Irvin법(1944)에 따라 측정하였다.

지방간

SD계 암컷 흰쥐에 D,L-ethionine(Sigma Chemical Co., USA)을 생리식염수에 녹여(2 w/v %) 200 mg/kg씩 피하주사하였고 약물은 ethionine 투여 4시간전, 투여 6시간 후 2회 경구투여 하였으며 용량은 담즙을체 모델에서와 동일하게 하였다. Ethionine 투여 24시간 경과후 ether로 마취시켜 간을 떼어내어 간장내 총지질량은 Frings법(1969)에 따라 측정하였으며, 중성지방량은 Triglyceride-kit(Sigma Chemical co., USA)를 사용하였고 총콜레스테롤량은 Libermann-

Burchard 반응을 이용하여 측정하였다.

약물중독

ICR계 생쥐에 acetaminophen(35 mg/ml, 0.45 N NaOH로 pH 10.6으로 조정) 350 mg/kg을 복강내 투여하고 24시간 경과후 두부를 잘라 혈액을 채취하여 혈청내 ALT, AST활성은 CCL₄ 항에서와 같이 kit를 사용하여 측정하였고, cytochrome P₄₅₀ 활성은 Omura 및 Sato 방법(1964)에 따라 측정하였다. 약물치치는 D-galactosamine 간염 실험항목에서와 동일하게 실시하였다.

항피로

SD계 수컷 흰쥐를 수침구속 고정틀(Natume, Japan)에 고정시키고 실온 24℃에서 수조에 넣어 24시간 동안 수침시킨 후, 마취하에 개복하여 비장과 부신을 절취하여 무게를 측정하고, 부신내의 ascorbic acid의 함량을 측정하였다. 약물투여는 D-galactosamine 간염 실험항목과 같은 용량으로 수침 2시간전, 수침후 6시간 및 21시간에 3회 경구투여하였다.

간세포 재생능력

SD계 수컷 흰쥐를 ethyl ether로 마취시키고 잘 소독된 수술기구로 복부 정중선을 잘라 조심스럽게 개복한 후 간의 중앙엽 및 좌측엽을 면실로 묶어 분리시킨 후 잘 떼어내었다. 이는 간장 전체의 65-70%를 떼어낸 상태로서 이 때 복부에는 간장의 우엽과 미상엽만이 남게 된다. 약물투여는 수술조작이 끝난 4시간 후에 경구투여하였으며, 익일 부터 매일 오후 5시경에 약물을 7일간 경구로 투여하여 간세포 재생률 및 BSP (bromosulphophthalein) 정체율을 측정하였다.

간세포 재생능력에 대한 효과의 지표가 되는 간세포 재생률 및 BSP 정체율은 다음과 같이 구하였다.

$$\text{재생률} = \frac{(\text{채혈시 간중량} - \text{수술시 간중량} + \text{떼어낸 간중량})}{\text{떼어낸 간중량}} \times 100$$

$$\text{*수술시 체중} \times 0.035$$

$$\text{BSP 정체율} = \frac{\text{BSP 투여 45분 경과시 BSP의 혈중농도} \times 100}{\text{BSP 투여 직후의 BSP 혈중농도}}$$

CCL₄ 만성간장해

SD계 수컷 흰쥐에 CCL₄: olive oil(2:3 v/v %) 용액을 0.5 ml/kg b.wt. 용량으로 6일간 경구 투여한 후, 7일째부터는 시험약물을 1% CMC용액에 현탁시켜 CCL₄ 혼합용액 투여 4시간전 및 투여후 4시간에 CCL₄와 함께 8일간 병용 투여하였다. 마지막 투여 24시간 후에 동물을 ethyl ether 마취하에 복부대동맥으로부터 채혈하고 치사시켜 혈청내 ALT 및 AST치, 간조직내 triglyceride, total protein 및 hydroxyproline 양(Jamall 등, 1981)을 측정하였으며, 간중량도 측정하였다.

통계처리

실험결과는 평균치±표준오차로 나타내었다. 유의성 검정은 Student's t test를 사용하였으며 P값이 0.05 미만일 경우 유의성 있다고 판정하였다.

실험결과

CCL₄ 간장해

약물치치를 하지않은 정상흰쥐의 혈청내 ALT치는 20~40 IU/L, AST치는 50~80 IU/L 이다. Table I에서 보는 바와 같이 음성대조군에서 ALT치는 정상흰쥐에 비해 약 30배 증가하여 968±110 IU/L로 나타내었고, AST치 역시 약 15배 증가한 849±109 IU/L로 나타내었다.

치치한 6가지 분획중 BE 분획만 제외하고 모든 분획에서 ALT치 및 AST치의 유의성있는 감소를 나타내었으며, 그중 PS-1 및 PS-2 분획에서의 수치는 음성대조군의 1/3~1/8 수준으로 가장 현저한 감소를 나타내었다.

D-Galactosamine 간염

Table II에서 보는 바와 같이 D-galactosamine 투여후 혈청내 ALT, AST치가 정상흰쥐에 비해 매우 높게 증가하였다(각각 581±57 IU/L, 690±56 IU/L). 이렇게 증가된 ALT치 및

Table I. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on ALT and AST in CCL₄-induced hepatotoxicity

| Group | ALT (IU/L) | AST (IU/L) |
|-----------|------------|------------|
| Control | 968±110 | 849±109 |
| BE | 644±55* | 922±297 |
| EE | 323±36** | 404±29** |
| HH | 149±14** | 402±39** |
| PS-1 | 181±31** | 261±6** |
| PS-2 | 130±11** | 294±20** |
| KP | 211±18** | 491±41** |
| Silymarin | 164±28** | 279±24** |
| UDCA | 276±35** | 388±44** |

The values are mean±S.E.M. for 7 to 11 rats per group. Significant difference from the control group (*p<0.05, **p<0.01).

Table II. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on ALT and AST in galactosamine-induced hepatitis

| Group | ALT (IU/L) | AST (IU/L) |
|-----------|------------|------------|
| Control | 581±57 | 690±56 |
| BE | 927±327 | 1777±572 |
| EE | 408±91 | 418±37** |
| HH | 354±73 | 535±61 |
| PS-1 | 319±18 | 244±17** |
| PS-2 | 171±15** | 398±32** |
| KP | 178±17** | 340±28** |
| Silymarin | 264±56 | 464±61 |
| DDB | 204±23** | 434±54** |

The values are mean±S.E.M. for 7 to 10 rats per group. Significant difference from the control group (**p<0.01).

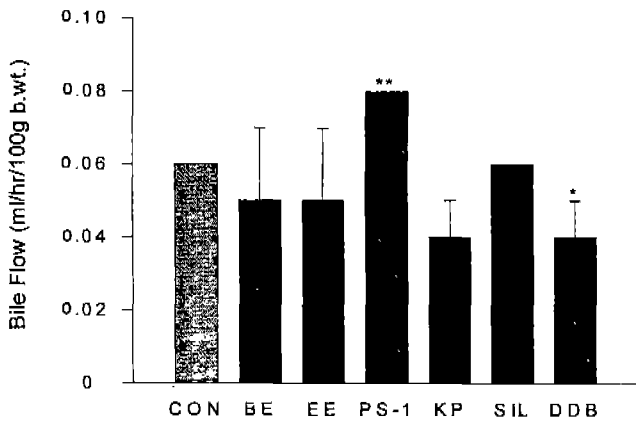


Fig. 1. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on bile flow in ANIT-induced cholestasis. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 to 9 rats per group. CON; vehicle administration, BE; 1500 mg/kg b.wt., EE; 500 mg/kg b.wt., PS-1; 300 mg/kg b.wt., KP; 180 mg/kg b.wt., SIL; silymarin 25 mg/kg b.wt., DDB; dimethyl-4,4'-dimethoxy-5,6,-5',6'-dimethylenedioxy-biphenyl-2,2'-dicarboxylate 37.5 mg/kg b.wt.

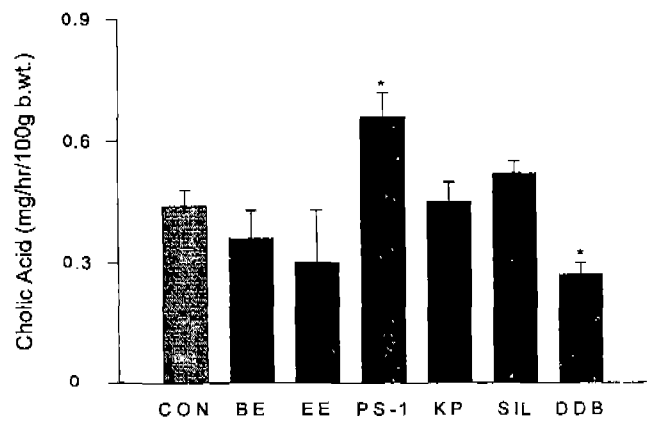


Fig. 3. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on cholic acid in ANIT-induced cholestasis. * $p < 0.05$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 to 9 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

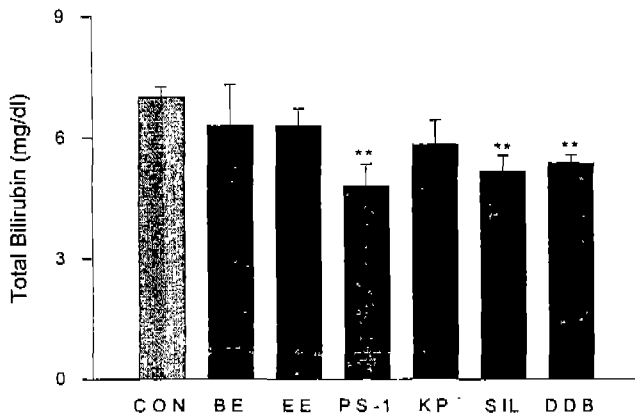


Fig. 2. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on total bilirubin in ANIT-induced cholestasis. ** $p < 0.01$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 to 9 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

AST치 모두는 양성대조약물인 DDB 투여군과 KP 및 PS-2 분획 투여군에서 유의성 있게 억제되었고, PS-1 및 EE 분획 투여군은 AST치에서만 유의성 있는 억제를 나타내었다.

이상과 같은 2가지 항목의 실험결과와 대량 추출공정을 감안하여 이하 시험은 6가지 분획중 HH 및 PS-2 분획을 제외한 4가지 분획(KP, PS-1, EE 및 BE 분획)을 사용하여 약 효검색을 진행하였다.

담즙을체

정상흰쥐에서 담즙배출량은 0.24 ± 0.03 ml/hr/100 g b.wt. 이었으나 ANIT 투여 후 0.06 ± 0.01 ml/hr/100 g b.wt.로 감소하였다. PS-1 분획 투여군에서의 담즙배출량은 0.08 ± 0.00 ml/hr/100 g b.wt.로 음성대조군에 비해 유의성 있게 증

가하였으나, DDB 투여군에서는 오히려 음성대조군보다 감소하였다(Fig. 1). 혈액내 총bilirubin치는 정상흰쥐에서 0.44 ± 0.08 mg/dl이였으나, ANIT 투여후 7.01 ± 0.26 mg/dl로 증가하였다. Silymarin, DDB와 PS-1 분획 투여군은 혈액내 총bilirubin치가 각각 5.18 ± 0.4 , 5.38 ± 0.2 및 4.82 ± 0.54 mg/dl로 음성대조군에 비하여 현저한 감소를 나타내었다(Fig. 2). 담즙내 cholic acid양은 정상흰쥐에서 1.21 ± 0.05 mg/hr/100 g b.wt.이였으나, ANIT 투여후 0.44 ± 0.04 mg/hr/100 g b.wt.로 감소하였다. PS-1 분획 투여군에 있어서는 0.66 ± 0.06 mg/hr/100 g b.wt.로서 ANIT 투여로 인한 담즙내 cholic acid양의 감소를 억제하였으나, DDB 투여군은 담즙내 cholic acid양이 0.27 ± 0.03 mg/hr/100 g b.wt.로 음성대조군에 비해 오히려 그 양이 감소되었다(Fig. 3).

지방간

정상흰쥐의 간장내 총cholesterol량은 3.94 ± 0.13 mg/g liver이나 ethionine을 투여한 후 4.63 ± 0.51 mg/g liver로 증가하였다. Silymarin 및 EE 분획 투여군의 총cholesterol량은 각각 3.45 ± 0.18 및 3.37 ± 0.21 mg/g liver로 음성대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었으나, PS-1 분획 투여군에서는 4.87 ± 0.21 mg/g liver로 음성대조군의 간장내 총cholesterol량 보다 오히려 높은 수치를 나타내었다(Fig. 4). 정상흰쥐의 간장내 총지질량은 41.4 ± 1.9 mg/g liver로 ethionine 투여후 70.8 ± 5.9 mg/g liver로 증가하였으나, silymarin 투여에 의해 유의성 있게 증가가 억제되었으나, DDB 및 모든 한인진 추출분획 투여군에서는 음성대조군과 비교하여 유의성은 없었다(Fig. 5). 정상흰쥐의 간장내 중성지방량은 13.0 ± 1.0 mg/g liver로 ethionine 투여후 22.9 ± 1.6 mg/g liver로 증가하였다. KP 분획 투여군을 비롯한 기타 모든 투여군에서 음성대조군과 비교하여 간장내 중성지방량의 유의성 있는 증가억제를 나타내었다(Fig. 5).

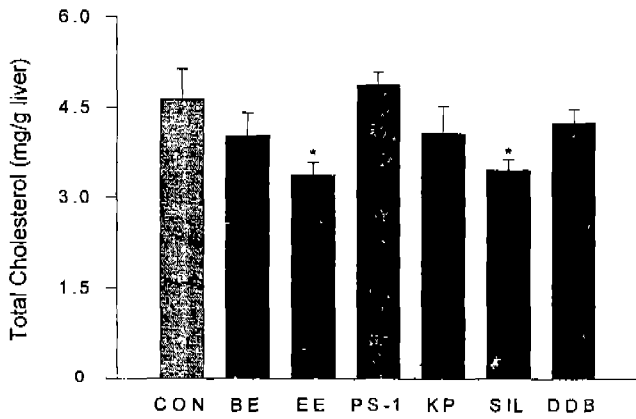


Fig. 4. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on total cholesterol in ethionine-induced fatty liver. * $p < 0.05$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

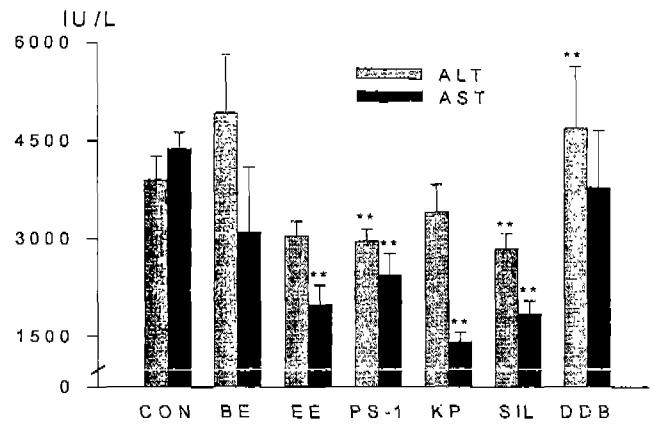


Fig. 6. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on ALT and AST in acetaminophen-induced hepatotoxicity. ** $p < 0.01$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 to 10 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

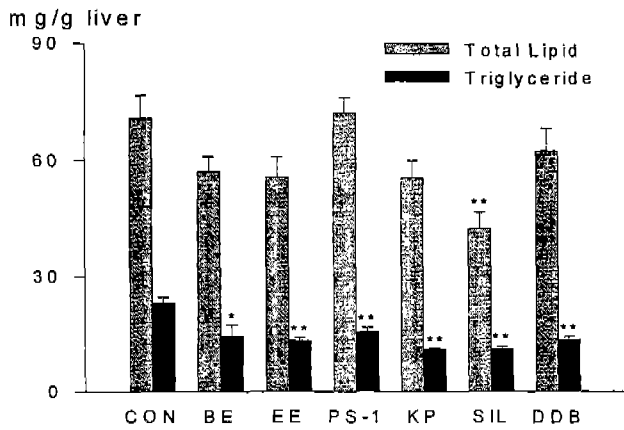


Fig. 5. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on total lipid and triglyceride in ethionine-induced fatty liver. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

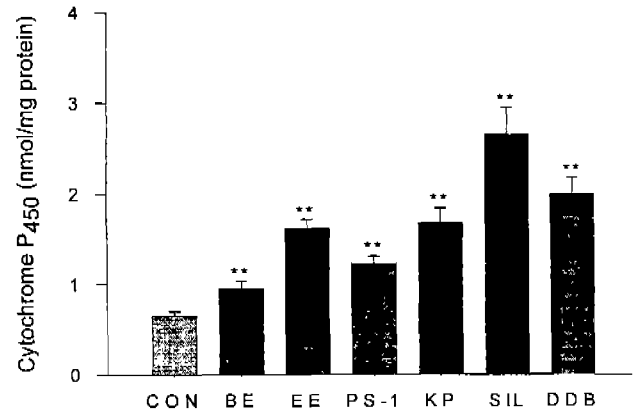


Fig. 7. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on cytochrome P₄₅₀ in acetaminophen-induced hepatotoxicity. ** $p < 0.01$, difference from the control group. Values are means \pm S.E.M. for 5 to 10 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

약물중독

Fig. 6에서 보는 바와 같이 acetaminophen 투여 후 마우스의 혈청내 ALT 및 AST치는 각각 3896 ± 363 IU/L 및 4381 ± 248 IU/L로 높게 증가하였다. PS-1 분획 및 silymarin 투여군의 ALT 및 AST치는 음성대조군의 1/2~2/3 수준으로 감소하였으나, DDB 투여군에서는 ALT치가 4680 ± 951 IU/L로 음성대조군에 비해 오히려 증가하였다. 또한 AST치에 있어 KP 및 EE 분획 투여군은 음성대조군에 비하여 1/2~1/3 수준으로 나타났다. 간장 microsome 효소계의 하나인 cytochrome P₄₅₀의 양을 측정된 결과 음성대조군(0.65 ± 0.05 nmol/mg protein)과 비교하여 모든 약물처치군에서 유의성 있는 증가를 나타냈으며 특히 silymarin 투여군에서는 음성대조군의 약 4배 수준으로 증가하였다(Fig. 7).

항 피로

Table III에서 보는 바와 같이 대조약물인 silymarin이나 DDB 투여군은 음성대조군과 큰 차이가 없었으나, 비장무게에 있어서 한인진 추출물인 PS-1 및 EE 분획 투여군에서는 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 증가를 나타내었으며, 부신무게는 한인진 추출물인 PS-1 분획 투여군에서 음성대조군에 비해 오히려 유의성 있는 증가를 나타내었다. 부신내 ascorbic acid 함량에 있어서는 PS-1 분획 투여군에서만 음성대조군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

간세포 재생능력

Fig. 8에서 보는 바와 같이 간세포 재생물에 있어서 모든 약물처치군에서 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 증가를 나타내었으나, BSP 정체율에 있어서는 PS-1 및 BE 분

Table III. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on relative organ weights and ascorbate in stressed rats

| Group | Spleen Weight (mg/100 g b.wt.) | Adrenal Weight (mg/100 g b.wt.) | Ascorbic Acid (mg/100 g ad.wt.) |
|-----------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Control | 189±15 | 19.8±1.1 | 102±5.0 |
| BE | 240±27 | 18.8±1.4 | 101±2.8 |
| EE | 362±55* | 21.7±1.4 | 104±5.1 |
| PS-1 | 293±20** | 24.6±0.6** | 125±5.4** |
| KP | 232±21 | 23.4±1.4 | 113±8.7 |
| Silymarin | 240±21 | 18.1±1.7 | 99±4.9 |
| DDB | 227±33 | 22.5±0.5 | 97±4.2 |

The values are mean±S.E.M. for 7 to 12 rats per group. Significant difference from the control group (**p<0.01).

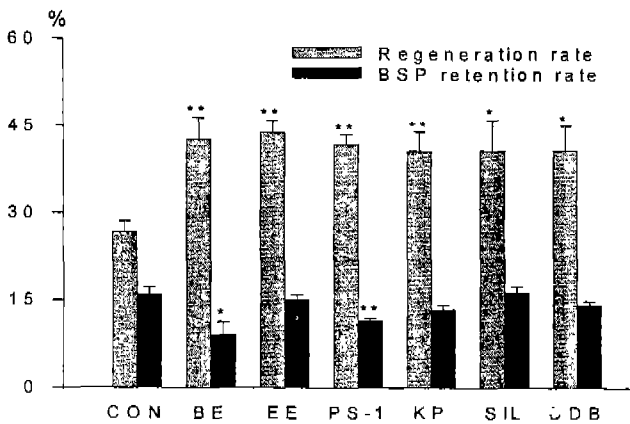


Fig. 8. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on regeneration rate and BSP retention rate in hepatectomized rats. *p<0.05, **p<0.01, difference from the control group. Values are means±S.E.M. for 5 to 10 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

획 투여군만이 유의성 있는 감소를 나타내었다.

CCl₄ 만성간장해

CCl₄의 반복투여시 모든 약물투여군에서 체중감소가 나타났으나, PS-1 분획 투여군에서는 이와같은 체중감소를 억제하는 경향을 나타내었다. 체중당 간장무게는 정상원취에 비하여 증가하는 경향을 나타내었는데 이는 체중감소에 의한 것으로 여겨지며, 체중당 간장무게에 있어 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 증가억제를 나타낸 약물은 없었다(Table IV). 혈청내 ALT 및 AST 활성은 음성대조군과 비교하여 silymarin, DDB 및 PS-1 분획 투여군에서 1/3~2/3 수준의 유의한 감소를 나타내었으며, EE 및 BE 분획 투여군에서는 ALT 활성에 있어서만 음성대조군과 비교하여 약 1/3 수준의 감소를 나타내었다(Fig. 9). 간조직내 중성지방과 단백질의 양 모두에서 PS-1 및 BE 분획 투여군은 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 감소를 나타내었으나, 양성대조로 사용한 silymarin 및 DDB 투여군은 음성대조군과 비슷한 값을 나타내었으며, 더 나아가 간섬유화(만성

Table IV. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on body weight change and liver weight in chronically CCl₄-intoxicated rats

| Group | Body Weight Change (g) | Liver Weight (g/100 g b.wt.) |
|-----------|------------------------|------------------------------|
| Control | -14.3±8.3 | 5.09±0.29 |
| BE | 7.9±6.6 | 5.19±0.20 |
| EE | 7.2±9.1 | 5.79±0.30 |
| PS-1 | -0.8±7.6 | 5.05±0.20 |
| KP | -16.3±6.2 | 4.76±0.17 |
| Silymarin | -13.6±7.7 | 4.81±0.19 |
| DDB | -12.2±12.0 | 4.77±0.28 |

The values are mean±S.E.M. for 7 to 12 rats per group.

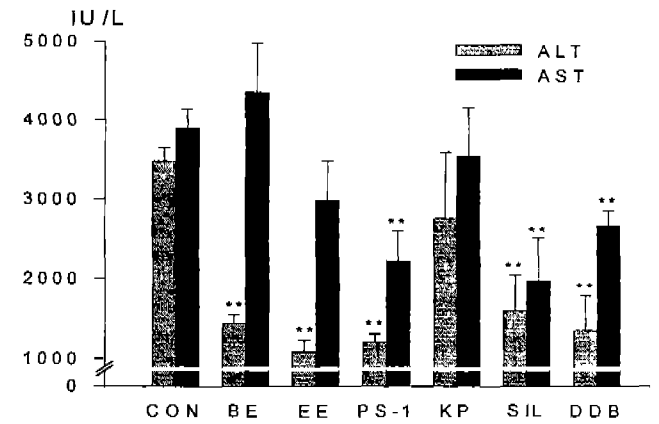


Fig. 9. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on ALT and AST in chronically CCl₄-intoxicated rats. **p<0.01, difference from the control group. Values are means±S.E.M. for 5 to 10 rats per group. For explanation of doses, see Fig. 1.

Table V. The preventive effect of *Artemisia iwayomogi* extracts on triglyceride, protein and hydroxyproline in chronically CCl₄-intoxicated rats

| Group | Triglyceride (mg/g liver) | Protein (mg/g liver) | Hydroxyproline (µg/g liver) |
|-----------|---------------------------|----------------------|-----------------------------|
| Control | 56.1±4.5 | 85.6±4.4 | 113±27 |
| BE | 34.2±3.2** | 60.1±4.1** | 87±18 |
| EE | 39.4±8.5 | 54.3±4.5** | 112±20 |
| PS-1 | 33.2±3.5** | 64.0±2.3** | 101±18 |
| KP | 53.4±5.1 | 84.8±4.5 | 82±10 |
| Silymarin | 72.0±14.9 | 90.3±6.4 | 112±25 |
| DDB | 38.7±8.2 | 83.6±4.0 | 88±25 |

The values are mean±S.E.M. for 5 to 10 rats per group. Significant difference from the control group (**p<0.01).

간장해) 치료제의 약효검색시 유효한 지표로 사용되는 간조직내 hydroxyproline양에 있어서는 모든 약물치치군에서 음성대조군과 비교하여 유의성 있는 변화는 없었으며, 단지 KP 분획 투여군에서만 유의성은 없었으나 감소하는 경향을 나타내었다(Table V).

고 찰

체내로 흡수된 CCl_4 는 약물대사 효소계인 cytochrome P_{450} system에 의해 CCl_3 (trichloromethyl radical)로 전환되어 간중심부괴사(centrilobular necrosis), 단백합성 억제, 지방변성 등을 야기시켜 간독성을 일으킨다고 알려져 있는데 (Recknagel과 Gilende, 1973), 한인진 추출분획인 PS-1 및 PS-2 분획은 양성대조인 silymarin과 동등수준으로 ALT 및 AST의 활성을 억제한 것으로 보아 CCl_4 에 의한 간독성을 보호하는 것으로 여겨진다.

D-Galactosamine은 아미노당으로서 간세포내에서 대사되는 과정중 UMP, UDP 및 UTP(uridine triphosphate)를 과도하게 소비하게 되는데, 이때 세포중 UTP의 과부족 상태는 결국 uracil-dependent RNA synthesis를 억제하게 된다. 이는 단백합성의 억제와 세포막 구조의 변형을 가져오게 되어 바이러스성 간염과 유사한 형태의 세포괴사를 초래하는 것으로 알려져 있다(Schanne 등, 1980). 한인진 추출분획인 KP 및 PS-1 분획이 양성대조물질인 DDB 보다 ALT 및 AST 활성을 현저히 억제한 것으로 보아 세포괴사 진행을 억제하는 것으로 여겨진다.

α -Naphthylisothiocyanate(ANIT)로 유발되는 담즙분비정지 상태(cholestatic state)에 관한 연구는 형태학적, 효소학적 및 대사학적 측면에서 오래전 부터 연구되어 왔지만, 그 기전이 여전히 불분명하고 최근에는 ANIT가 담관내 tight junction의 투과성을 증가시켜 담즙성분을 혈관내로 역류시킴으로써 담즙울체를 야기시킨다고 알려져 있다(Krell 등, 1982). 한인진의 황달처방에 따른 효과가 담즙울체에 있어 담즙배출량 증가로 나타났으며, 추출분획중 다당체 분획 PS-1에서 현저하게 나타남을 알 수 있었다.

Ethionine은 간장내 ATP 농도를 고갈시켜 간독성을 유발시키고(Farber, 1971), 특히 각 간세포내에 많은 양의 지방소적(fat droplets)을 축적시켜 미세수포 지방증(microvesicular steatosis)을 일으킨다(Hoyumpa 등, 1975)고 알려져 있다. 양성대조인 silymarin 투여군과 EE 분획 투여군에서만 ethionine 유발 지방간에 대하여 효과가 있는 것으로 나타났으며, 기타 시험물질 및 양성대조물질 DDB도 효과가 없는 것으로 보아 한인진 추출분획은 ethionine에 의해 유발된 지방간에는 거의 효과가 없는 것으로 생각되어진다.

Acetaminophen은 간에서 microsome 효소계를 경유하여 glucuronide와 sulfate ester로 포함되어 불활성화되는 대사가 이루어지나, acetaminophen을 과량 섭취하면 glucuronide와 sulfate conjugate가 포화상태에 이르러 glutathione의 저장고를 고갈시키고, 간세포 보호능력을 초과해서 hepatic macromolecules와 결합하여 세포괴사를 일으키게 된다(Mitchell 등, 1973). 한인진 추출분획중 acetaminophen 약물중독에 대하여 양성대조인 silymarin과 동등수준의 효과를

나타내는 PS-1 분획이 가장 효과가 우수한 것으로 나타났으나 microsome 효소계의 활성화에는 그다지 우수하지 않은 것으로 여겨진다.

스트레스는 교감신경계인 뇌하수체-부신계의 기능항진에 의해 모든 반응이 매개되며 정동반응을 일으키는 것과 동시에 운동기능 및 자율기능에도 영향을 미친다고 알려져 있다(Galvin, 1985). 수침구속 스트레스시에 정상원취에 비하여 비장무게는 감소하고 부신무게는 증가하며, 부신내의 ascorbic acid의 함량은 감소한다. PS-1 분획만이 비장무게의 감소억제, 부신무게의 증가억제를 나타낸 것으로 보아 한인진 추출분획인 PS-1 분획이 항스트레스 작용이 있는 것으로 생각된다.

간장은 다른 조직장과 달리 신속한 조직재생 능력을 가지고 있으며, 흰쥐의 경우 일반적으로 70% 정도의 간을 절제하여도 정상기능을 유지하면서 3주 이내에 원래의 크기 까지 재생된다고 보고되어 있다(Frederick과 Fishback, 1929). 간기능의 지표인 BSP의 정체율에 있어 유의성 있는 증가억제를 나타내는 투여군으로서 PS-1과 BE 분획 투여군이 해당되고, 간세포 재생률에 있어서는 모든 투여군에서 유의성 있는 증가가 나타났으나, 특히 EE 분획 투여군이 가장 증가한 것으로 나타났다. 이는 만성적 투여에 있어서는 EE 분획의 투여도 효과가 있음을 보여준다.

만성적인 CCl_4 의 투여에 의해 일어나는 간세포괴사에 의한 지방증(lipidosis)은 간조직중 중성지방의 증가 및 혈청중 ALT 및 AST 활성의 증가를 볼 수 있다. 혈청중 ALT 및 AST 활성의 증가억제는 양성대조인 silymarin과 동등수준으로 PS-1 분획이 효과가 있는 것으로 나타났으며, 간조직중 중성지방의 증가억제도 PS-1 분획이 가장 효과가 우수한 것으로 나타났으므로 만성적 CCl_4 간독성에 대하여 PS-1 분획이 간보호 효과가 있는 것으로 생각된다.

이상의 결과로부터 한인진 추출분획중 PS-1 분획이 여러가지 간장해 모델에 대하여 간장치료 및 보호효과가 가장 우수한 것으로 검색되어졌으므로 임상시 중요시 되고 있는 몇몇 간질환에 대한 PS-1 분획의 용량에 따른 구체적인 효과관찰이 앞으로 수행되어져야 한다고 생각되어진다.

감사의 말씀

이 연구는 1995년도 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 깊이 감사드립니다.

참고문헌

- Farber, E. (1971). Biochemical pathology. *Annal. Rev. Pharmacol.* **11**, 71-96.
- Frederick, C. and Fishback, M. D. (1929). A morphologic study of regeneration of the liver after partial removal. *Ar-*

- chiv. Pathol.* **10**, 955-977.
- Frings, C. G. and Dun, R. T. (1969). 21st National meeting of the Am. Ass. Clin. Chemist.
- Glavin, G. B. (1985). Stress and brain noradrenaline: A review. *Neuro. & Biobehav. Rev.* **9**, 233-243.
- Hoyumpa, A. M. Jr., Green, H. L., Dunn, G. D. and Schenker, S. (1975). Fatty liver: Biochemical and clinical considerations. *Am. J. Dig. Dis.* **20**, 1142-1163.
- Irvin, J. L., Johnston, C. G. and Kopalz, J. (1944). A photometric method for the determination of cholate in bile and blood. *J. Biol. Chem.* **153**, 439-457.
- Jamall, I. S., Finelli, V. N. and Que Hee, S. S. (1988). A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue. *Anal. Biochem.* **112**, 70.
- Kim, J. H., Shin, K. H and Cho, T. S. (1986). Effect of *Artemisia* on Na⁺ - K⁺-ATPase activities in rat liver. *S. K. K. U. J. Sci. & Tech.* **38**, 223-227.
- Krell, H., Hoeke, H. and Pfaff, E. (1982). Development of intrahepatic cholestasis by α -naphthylisothiocyanate in rats. *Gastroenterol.* **82**, 507-514.
- Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Gillette, J. R. and Brodie, B. B. (1973). Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **187**, 211-217.
- Omura, T. and Sato, R. (1964). The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *J. Biol. Chem.* **239**, 2370-2385.
- Recknagel, R. O. and Gilende, E. A. Jr. (1973). Carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of lethal cleavage. *CRC. Crit. Rev. Toxicol.* **2**, 263-297.
- Schanne, F. A. Y., Pfau, R. G. and Farber, J. L. (1980). Galactosamine-induced cell death in primary cultures of rat hepatocytes. *Am. J. Pathol.* **100**, 25-35.
- Yamahara, J. and Matsuda, H. (1982). Biologically active principles of crude drugs. Pharmacological evaluation of *Artemisia capillaris* Flos.(1). *Yakugaku Zasshi.* **102**, 285-291.
- Yoshinobu, K., Yuriko, S., Chohachi, K., Hiroshi, H., Ichio, H and Yukiko, Y. (1982). Application of carbon tetrachloride-induced liver lesion in mice for screening of liver protective crude drugs. *Shoyakugaku Zasshi.* **36**, 238-244.
- 眞下啓明, 清水喜八郎, 千原吳郎 (1963). 利膽劑の研究. 最新醫學 **18**, 1430.
- 菊谷豊産 (1968) 月刊藥事 **10**, 1663.
- 韓德龍, 金仁惠 (1973). 生藥學會誌 **4**, 71.
- 黃偉康, 巢亞豐 (1957). 上海中醫藥雜誌 **8**, 19.