

발효강화쑥의 간장해 보호효과

최혁재 · 김은진 · 한명주¹ · 백남인² · 김동현³ · 정해곤⁴ · 김남재*

경희대학교 동서의학연구소, ¹식품영양학과, ²생명공학원 및 식물대사센터, ³약학대학, ⁴강화농업기술센터

Hepatoprotective Effect of Fermented *Artemisia princeps* PAMPANINI by Lactic Acid Bacteria

Hyuck Jae Choi, Eun Jin Kim, Myung Joo Han¹, Nam In Baek²,
Dong Hyun Kim³, Hae Gon Jung⁴ and Nam Jae Kim*

East-West Medical Research Institute, Kyung Hee University, Seoul 130-702, Korea

¹Department of Food and Nutrition, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

²Graduate School of Biotechnology and Plant Metabolism Research Center, Kyung Hee University, Suwon 449-701, Korea

³College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

⁴Ganghwa Agricultural R&D Center, Incheon 417-800, Korea

Abstract – *Artemisia princeps* PAMPANINI has been used in traditional medicine of the treatment of inflammatory, liver dysfunction and order disorder in the far east countries including Korea. The present study was carried out to investigate the hepatoprotective effects of ethanol extract of *Artemisia princeps* (AP) and its fermented agents (AP-F) by lactic acid bacteria derived from human intestinal bacteria on liver injured rat induced by CCl₄ and d-galactosamine. Hepatoprotective activity was monitored by estimating serum ALT, AST, ALP, LDH, superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR) and glutathione peroxidase (Gpx) activities in the liver injured by hepatotoxin. Pretreating rats with AP or AP-F at the same dosage regimen significantly suppressed the acute elevation of serum transaminase, ALP, LDH and GR activities, and significantly increased the lowering of blood SOD and GR activities induced by hepatotoxin. Based on these findings, it is presumed that AP and AP-F may have the hepatoprotective effect on CCl₄ and d-galactosamine-induced hepatotoxicity rat.

Key words – *Artemisia princeps* PAMPANINI, Fermented *Artemisia*, lactic acid bacteria, hepatoprotective, transaminase, antioxidative

쑥은 국화과(Compositae)의 쑥속(*Artemisia*)에 속하는 다년생 초본으로 우리나라에서 약 30여종 자생하며 식용 또는 약용으로 이용되고 있다.^{1,2)}

쑥 중에서 강화쑥(*Artemisia princeps* PAMPANINI)은 강화특화작목으로서 신증동국여지승람, 방약합편 등에 獅子足艾, 사자발쑥으로 기재되어 있다.^{3,4)} 또한, 대한약전의 한약(생약) 규격집에는 전초를 애엽으로 수재되어 한방의료에서 널리 이용되고 있다.⁵⁾

쑥에는 정유로 cineol, thujone, borneol 등, coumarin으로 isocoumarin, coumarin 등, flavonoid로 eupatilin, jaceocidin, eupafolin, apigenin 등, 지방산으로 capric acid, palmitic acid 등과 caffeic acid, catechol, protocatechonic acid,

sesamin 등이 보고되어 있다.⁶⁻⁹⁾

艾葉은 본초학적으로 名醫別錄 중품에 처음으로 수재되어 있고, 散寒止痛, 溫經止血 등의 효능이 있어 少腹冷痛, 經寒不調, 宮冷不孕, 吐血, 崩癩過多 등에 응용된다.¹⁰⁾ 그리고, 쑥의 약리작용으로는 항염작용, 항암작용, 혈당상승억제작용, 혈액응고억제작용, 항궤양작용, 항균작용, 간 보호작용 등 다양한 활성이 밝혀졌다.^{6,11-17)} 특히 쑥에 함유된 eupatilin은 항궤양작용, 항암작용, 항산화작용, 항알러지작용 등이 밝혀졌다.^{11,18-20)} 또한 개똥쑥에 함유된 artemisinin은 항말라리아작용이 보고되었다.^{21,22)}

한편 우리나라에서 자생하고 있는 쑥의 유효물질 중 하나인 eupatilin 함유량은 지역적 함량변이가 매우 크고, 강화도, 백령도를 중심으로 한 서해안 지역에서 높은 함량을 보이는 반면에 동해안과 남해안 지역에서 수집된 쑥에서는 거

*교신저자 (E-mail): njkim@khmc.or.kr
(FAX): 02-958-9531

의 함유되어 있지 않음이 밝혀졌다.²³⁾ 따라서, 강화쑥이 다른 지역의 쑥과 다른 화학적 차이가 있음에 따라 강화특화작목으로서 가치가 우수하다고 할 수 있다.

또한, 천연물로부터 인간에게 유용한 신소재를 개발하기 위한 다양한 전략을 구사하고 있으며, 그중 효소나 유산균 등을 이용한 생물전환 신소재가 개발되고 있으며, 대표적인 것이 발효홍삼이다. 그리고, Lee 등²⁴⁾은 강화쑥의 유산균 발효물이 항알러지작용이 있음을 보고한 바 있다.

따라서, 강화특화작목인 강화쑥의 식의약품의 기능성 신소재로서 유용성을 추구하고자 하는 연구의 일환으로 강화쑥을 사람 장내미생물 유래 유산균을 이용하여 발효시킨 생물전환 발효강화쑥의 간장해 보호활성을 검토한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에서 사용한 강화쑥(*Artemisia princeps* PAMPANINI, 국화과 Compositae) 주정(Ethanol) 추출물은 경희대학교 생명과학대학 백남인 교수로부터 분양받아 사용하였다. 또한 Lee 등의 방법²⁴⁾에 준하여 강화쑥 주정 추출물의 장내 유산균에 의한 발효강화쑥을 경희대학교 약학대학 김동현 교수로부터 분양받아 사용하였다. 각각 voucher specimen은 경희대학교 생명과학대학 및 약학대학에 보관하고 있다.

실험동물 - 본 실험에서 사용한 실험동물은 (주)샘타코에서 구입한 250 g 전후의 SD계 웅성 흰쥐를 사용하였고, 물은 상수를 사용하여 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 2주간 순응시킨 후 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 실험은 24±2°C, 습도 60%의 항온, 항습장치가 되어 있는 실험실내에서 실시하였다.

시약 및 기구 - *tert*-Butylhydroperoxide, 3,4-dimethylthiazol-2-yl-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), fetal bovine serum(FBS), d-galactosamine, CCl₄는 Sigma Co.(미국), 혈중 transaminase(AST & ALT), alkaline phosphatase, lactic dehydrogenase 효소활성측정용 kit는 Asan Pharm. Co.(한국), RANDOX GR 2368, RANDOX RANSEL RS 505 kit 및 RANDOX RANSOD SD 125 kit는 RANDOX Laboratories Ltd.(영국) 제품을 사용하였고, 기타 분석용 시약은 1급 시약을 사용하였다. 기구로는 Prime Automatic Clinical Chemistry Analyzer(BPC Biosed, 이탈리아), 분광광도계(UV-160A, Shimadzu Co. 일본), 원심분리기(VS-6000CFN, Vision Scientific Co., 한국), COBAS MIRA PLU S(Roche Products Ltd, 한국) 등을 사용하였다.

In vitro계에서 HepG2 cell 배양과 *t*-BHP 세포독성 보호작용 - HepG2 cell은 MEM(10% FBS)배지를 사용하여 배양하였으며 3일마다 계대 배양하였다. HepG2 cell을

0.25% trypsin 처리하여 떼어내고 1×10⁵ cell/ml로 seeding 하여 24시간 동안 cell을 부착시켰다. 세포를 부착시킨 후 강화쑥 추출물(AP) 및 발효강화쑥(AP-F)을 처리하여 1시간 동안 반응시켰다. 1시간 후 100 μM *tert*-butylhydroperoxide(*t*BHP)을 가하고 2시간 반응 후 MTT시약을 가하여 1시간 동안 반응시키고 595 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁵⁾

사염화탄소 유발 간독성에 미치는 영향 - 흰쥐 1군을 6마리로 하여 검액을 1일 1회 5일간 경구투여하고 최종투여 3시간 후에 olive oil에 용해시킨 20% 사염화탄소 1.0 ml/100 g을 경구투여하였다. 사염화탄소 투여 24시간 후에 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다.²⁶⁾ 혈청 중 transaminase (ALT & AST), alkaline phosphatase(ALP) 및 lactic dehydrogenase (LDH) 효소활성도를 아래의 방법에 따라 측정하였다. 또한, 혈액 중 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase(GR) 및 glutathione peroxidase(Gpx) 효소활성도를 아래 방법에 준하여 측정하였다. 검액은 강화쑥 주정 추출물(AP)과 발효강화쑥(AP-F) 각각 100 mg/kg 및 400 mg/kg을 각각 경구투여하였고, 대조군에는 생리식염수를 투여하였으며, 양성비교약물로는 silymarin 25 mg/kg을 경구투여하여 비교관찰하였다.

d-Galactosamine 간장해에 대한 작용 - 흰쥐 1군을 6마리로 하여 검액을 각각 1일 1회 5일간 경구투여하고 최종투여 30분 후에 d-galactosamine 250 mg/kg을 복강내 투여하였다. d-Galactosamine 투여 후 24시간 동안 절식시키고 ether로 가볍게 마취시킨 다음 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다.^{27,28)} 검액 투여 및 혈청 중 효소활성도 측정은 전기 사염화탄소 유발 간독성에 미치는 영향과 동일한 방법으로 실시하였다.

혈청 중 효소활성도 측정 - 혈청 중 AST와 ALT는 UV-Rate법²⁹⁾에 따라, ALP는 *p*-니트로페닐인산 기질법,³⁰⁾ LDH는 UV-Rate법³¹⁾을 이용하여 측정용 kit 시약(Asan Pharm. Co.)를 사용하여 Prime automatic clinical chemistry analyzer로 측정하였다.

혈중 Glutathione reductase와 Glutathione peroxidase 활성 측정 - 채취한 전혈을 3,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리한 다음, 상등액을 취해 glutathione reductase 활성은 RANDOX Glutathione Reductase GR 2368 kit를, glutathione peroxidase 활성은 RANDOX RANSEL RS 505 kit를 사용하여 Cobas Mira Plus로 측정하였다.

혈중 SOD 활성 측정 방법 - 채취한 전혈 0.5 ml에 생리식염수를 적당량 가하여 vortex mixing하여 세척한 후 3,000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리한 다음 상층의 생리식염수를 suction하여 제거하였다. 이 과정을 세 번 반복 후 증류수로 2 ml이 되게 맞춘 후, RANDOX RANSOD SD

Table I. Effect of *Artemisia princeps* (AP) and Its Fermented Agents (AP-F) by Lactic Acid Bacteria on *t*-BHP-induced HepG2 cells

Concentration (µg/ml)	Groups	Protection (%)	
		AP	AP-F
12.5		14.3	14.3
25.0		20.0	62.9
50.0		25.7	57.1

AP:80% Ethanol extract of *Artemisia princeps* PAMPANINI.
 AP-F:Fermented agents of 80% ethanol extract of *Artemisia princeps* by lactic acid bacteria.

125 kit를 사용하여 Cobas Mira Plus로 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 자료분석은 Student's t-test를 이용하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

실험결과

***In vitro*에서 HepG2 cell의 *t*-BHP 독성에 대한 보호효과** - 간장해 보호 기능성을 검토하고자 *in vitro*에서 human hepatoma cell line인 HepG2 cell을 이용하여 *tert*-butylhydroperoxide(*t*-BHP) 처치로 유발된 세포독성에 대한 보호효과

를 검토하여 그 결과를 Table I에 제시하였다. 그 결과 강화숙 및 장내미생물로부터 분리한 유산균 K-525로 발효시킨 발효강화숙의 세포독성 보호효과를 평가한 바 25 µg/ml 농도에서 발효전 검체에 비하여 유산균으로 처리하여 얻은 생물전환 발효숙에서 양호한 세포독성보호효과를 관찰하였다.

사염화탄소 유발 간장해에 대한 보호효과

혈청 중 효소활성에 대한 효과 - 사염화탄소 투여로 유발된 간장해 흰쥐의 혈청 중 transaminase(AST, ALT), alkaline phosphatase(ALP) 및 latic dehydrogenase(LDH) 활성도에 미치는 검액 강화숙(AP) 및 발효강화숙(AP-F) 효과를 Table II에 제시하였다. 흰쥐에 사염화탄소를 처치하면 혈중의 asparate aminotransferase(AST), 혈청중 alanine transaminase(ALT), ALP 및 LDH 효소활성은 사염화탄소 비처리 정상군에 비하여 유의한 효소활성도 증가를 보여 간장해가 유발됨을 알 수 있었다.

AST 효소활성도는 AP 100 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서는 각각 443.3±32.7 IU/L와 403.3±41.4 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 유의차는 없었다. 반면에 AP-F 100 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서는 각각 206.7±23.1 IU/L와 180.0±21.2 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p < 0.001$ 의

Table II. Effects of *Artemisia princeps* (AP) and Its Fermented Agents (AP-F) by Lactic Acid Bacteria on Serum Transaminase (AST & ALT), Alkaline Phosphatase (ALP) and Lactic Dehydrogenase (LDH) Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injured Rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	Serum enzyme activities (IU/L)			
		AST	ALT	ALP	LDH
Normal	-	88.3±12.9 ^{a)} (-)	29.0±1.1 ^{a)} (-)	357.5±21.8 ^{a)} (-)	285.0±46.5 ^{a)} (-)
Control	-	530.0±54.2 ^{###} (83.3)	303.3±32.2 ^{###} (90.4)	598.3±23.4 ^{###} (40.3)	996.7±51.0 ^{###} (71.4)
AP	100	443.3±32.7 (19.6)	276.7±22.2 (9.7)	577.5±24.3 (8.7)	816.7±91.3* (25.3)
AP	400	403.3±41.4 (28.7)	226.7±27.5* (27.9)	539.2±16.5 (4.67)	666.7±85.7* (46.4)
AP-F	100	206.7±23.1 ^{***} (73.2)	116.7±20.7* (42.5)	586.7±49.4 (4.8)	416.7±45.4 ^{***} (81.5)
AP-F	400	180.0±21.2 ^{***} (79.2)	83.3±24.9 ^{***} (80.2)	519.2±27.4* (32.9)	316.7±13.2 ^{***} (95.6)
Silymarin	25	326.7±31.3 ^{**} (46.0)	186.7±28.7* (42.5)	487.5±30.7* (46.0)	636.7±69.6 ^{**} (50.6)

a); Mean±Standard error of 6 rats.

AP:80% Ethanol extract of *Artemisia princeps* PAMPANINI.

AP-F:Fermented agents of 80% ethanol extract of *Artemisia princeps* by lactic acid bacteria.

#; Statistically significant compared with normal data (###: $p < 0.001$)

; Statistically significant compared with control data (: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$ and ***: $p < 0.001$)

Parenthesis values are % of protection that is calculated as 100 (values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal).

Table III. Effects of *Artemisia princeps* (AP) and Its Fermented Agents (AP-F) by Lactic Acid Bacteria on Blood Superoxide dismutase (SOD), Glutathione Reductase (GR) and Glutathione Peroxidase (Gpx) Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injured Rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Blood Enzyme activities(U/g Hb)		
			SOD	GR	Gpx
Normal	-	6	1,670±48.7 ^{a)} (-)	30.8±1.1 ^{a)} (-)	875.9±27.7 ^{a)} (-)
Control	-	6	1,519±20.7 [#] (9.0)	187.2±5.3 ^{###} (507.6)	757.5±15.6 ^{##} (13.5)
AP	100	6	1,532±17.6 (8.6)	181.6±11.5 (3.6)	785.6±18.4 (23.8)
AP	400	6	1,598±25.9* (52.9)	159.0±10.8* (18.0)	821.4±25.4* (54.0)
AP-F	100	6	1,554±51.9 (4.8)	119.3±16.2** (43.4)	816.3±26.4 (49.7)
AP-F	400	6	1,638±30.3* (79.0)	102.6±17.3*** (54.1)	846.6±15.7** (75.3)
Silymarin	25	6	1,619±16.9** (66.5)	153.3±4.4*** (21.7)	845.0±13.1*** (73.9)

a); Mean±Standard error of 6 rats.

AP: 80% Ethanol extract of *Artemisia princeps* PAMPANINI.

AP-F: Fermented agents of 80% ethanol extract of *Artemisia princeps* by lactic acid bacteria.

#; Statistically significant compared with normal data (#: $p<0.05$, ##: $p<0.01$ and ###: $p<0.001$)

; Statistically significant compared with control data (: $p<0.05$, **: $p<0.01$ and ***: $p<0.001$)

Parenthesis values are % of protection that is calculated as 100 (values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal).

유의한 혈청중 AST 효소활성 상승억제효과를 관찰할 수 있었고 검액의 용량의존적임을 알 수 있었다. ALT 활성은 AP 및 AP-F 검액 400 mg/kg 투여군에서는 각각 226.7±27.5 IU/L와 83.3±24.9 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 각각 $p<0.05$ 와 $p<0.001$ 의 유의한 혈청중 ALT 효소활성 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 그리고 각 검체 저농도 100 mg/kg 투여군에서 AP 처치군에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 유의차는 없었으나, AP-F 처치군에서는 116.7±20.7 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의한 혈청 중 ALT 효소활성 상승억제효과를 보였다.

혈청중 ALP 효소활성도는 AP 100 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서는 각각 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 다소 억제시키는 경향을 보이나 유의차는 없었다. 반면에 AP-F 400 mg/kg 처치군에서는 519.2±27.4 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의한 상승억제효과가 인정되었으며, 저농도 처치군에서는 별다른 영향을 주지 못하였다.

혈청중 LDH 활성은 AP 및 AP-F 400 mg/kg 투여군에서는 각각 666.7±85.7 IU/L와 316.7±13.2 IU/L로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 와 $p<0.001$ 의 유의한 혈청중 LDH 효소활성 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 그리고 저농도 100 mg/kg 처치군에서도 각각 대조군에 비하여 유의한 혈청 중 LDH 효소활성도 상승억제효과가 인정되었으

며, 검액의 농도의존적임을 알 수 있었다. 특히 AP-F 400 mg/kg 처치군은 거의 정상 대조군으로 회복됨을 알 수 있었다. 양성대조약물 silymarin 25 mg/kg 투여군에서도 혈청중 AST, ALT 및 LDH 효소활성도는 대조군에 비하여 유의하게 상승억제시킴을 관찰할 수 있었다.

혈액 중 항산화효소활성에 미치는 효과 - 사염화탄소 투여로 유발된 간장해 흰쥐의 혈액 중 superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR) 및 glutathione peroxidase (Gpx) 효소활성에 미치는 검액 강화숙 (AP) 및 발효강화숙 (AP-F) 효과를 Table III에 제시하였다. 흰쥐에 사염화탄소를 처치하면 혈중의 SOD 및 Gpx 효소활성도는 사염화탄소 비처치 정상군에 비하여 유의하게 감소되며, GR 효소활성도는 유의하게 증가됨을 알 수 있었다.

혈액 중 SOD 효소활성도는 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 투여군에서는 각각 1,598±25.9 Unit/g Hb와 1,638±30.3 Unit/g Hb로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의한 감소억제효과를 관찰할 수 있었으며, 저농도 100 mg/kg 처치군에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 유의차는 없었다. 또한 GR 효소활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 처치군은 각각 159.0±10.8 Unit/g Hb과 102.6±17.3 Unit/g Hb로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 와 $p<0.001$ 의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 한편 저농도 100

Table IV. Effects of *Artemisia princeps* (AP) and Its Fermented Agents (AP-F) by Lactic Acid Bacteria on Serum Transaminase (AST & ALT), Alkaline Phosphatase (ALP) and Lactic Dehydrogenase (LDH) Activities in d-Galactosamine-induced Experimental Liver Injured Rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	Serum enzyme activities(IU/L)			
		AST	ALT	ALP	LDH
Normal	-	77.5±4.7 (-)	27.8±2.1 (-)	350.8±12.5 ^{a)} (-)	244.2±16.2 ^{a)} (-)
Control	-	4,587±318.8 ^{###} (5,818)	4,643±428.0 ^{###} (16,582)	750.0±57.3 ^{###} (113.8)	5,300±377.2 ^{###} (2,071)
AP	100	3,473±196.3 ^{**} (24.7)	2,853±216.5 ^{***} (38.8)	473.3±29.8 ^{***} (69.3)	4,590±106.7 (14.0)
AP	400	2,870±331.7 ^{**} (38.1)	2,190±206.3 ^{***} (53.2)	437.5±69.0 ^{**} (78.3)	3,517±135.5 ^{***} (35.3)
AP-F	100	4,517±434.2 (1.6)	4,303±461.1 (7.4)	695.0±44.8 (4.8)	4,933±335.2 (7.3)
AP-F	400	3,740±524.2 (18.8)	3,450±244.4 [*] (25.9)	569.2±49.5 [*] (45.3)	4,203±221.4 [*] (21.7)
Silymarin	25	3,660±324.3 [*] (20.6)	2,900±278.5 ^{**} (43.8)	665.0±52.9 (21.3)	3,310±317.3 ^{**} (39.4)

a); Mean±Standard error of 6 rats.

AP:80% Ethanol extract of *Artemisia princeps* PAMPANINI.

AP-F:Fermented agents of 80% ethanol extract of *Artemisia princeps* by lactic acid bacteria.

#;Statistically significant compared with normal data (###: $p<0.001$)

;Statistically significant compared with control data (: $p<0.05$, **: $p<0.01$ and ***: $p<0.001$)

Parenthesis values are % of protection that is calculated as 100 (values of d-galactosamine control-values of sample)/(values of d-galactosamine control-values of normal).

mg/kg 처치군에서 AP 처치군은 별다른 영향을 미치지 못하였으나, AP-F 처치군에서는 119.3±16.2 Unit/g Hb로 대조군에 비하여 $p<0.01$ 의 유의한 상승억제효과를 나타내었다.

그리고, Gpx 효소활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 처치군은 각각 821.4±25.4 Unit/g Hb와 846.6±15.7 Unit/g Hb로 사염화탄소 처치군에 비하여 $p<0.05$ 와 $p<0.01$ 의 유의한 감소억제효과를 나타내었다. 저농도 100 mg/kg 처치군은 각각 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 유의차는 없었다. 양성대조약물 silymarin 25 mg/kg 투여군에서도 혈액 중 SOD, GR 및 Gpx 효소활성도는 대조군에 비하여 유의한 개선효과를 관찰할 수 있었다.

d-Galactosamine 유발 간장해에 대한 보호효과

효소 활성도에 대한 효과 - d-Galactosamine 투여로 유발된 간장해 흰쥐의 혈청 중 transaminase, ALP 및 LDH에 미치는 검액 강화숙(AP) 및 발효강화숙(AP-F) 효과를 Table IV에 제시하였다. 흰쥐에 d-galactosamine를 처치하면 혈청의 AST, ALT, ALP 및 LDH 효소활성은 d-galactosamine 비처치 정상군에 비하여 유의한 증가를 보였다.

혈청 중 AST 효소활성도는 AP 100 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서는 각각 3,473±196.3 IU/L와 2,870±331.7 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.01$ 의 유의한

상승억제효과가 인정되었다. 반면에 AP-F 100 mg/kg 및 400 mg/kg 투여군에서는 각각 4,517±434.2 IU/L와 3,740±524.2 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 유의차는 없었다. 혈청중 ALT활성은 AP 및 AP-F 검액 400 mg/kg 투여군에서는 각각 2,190±206.3 IU/L와 3,450±244.4 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 각각 $p<0.001$ 과 $p<0.05$ 의 유의한 혈청중 ALT 효소활성 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 그리고 각 검체 저농도 100 mg/kg 투여군에서 AP 처치군은 2,853±216.5 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.001$ 의 유의한 혈청 중 ALT 효소활성 상승억제효과를 보였으나 AP-F 처치군은 다소 억제시키는 경향을 보이거나 유의차는 없었다.

혈청중 ALP 효소활성도는 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 투여군에서는 각각 437.5±69.0 IU/L와 569.2±49.5 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.01$ 과 $p<0.05$ 의 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 그리고 각 검체 저농도 100 mg/kg 투여군에서 AP 처치군은 473.0±29.8 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.001$ 의 유의한 혈청 중 ALP 효소활성 상승억제효과를 보였으나 AP-F 처치군은 다소 억제시키는 경향을 보이거나 유의차는 없었다.

혈청중 LDH 활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 투여

Table V. Effects of *Artemisia princeps* (AP) and Its Fermented Agents (AP-F) by Lactic Acid Bacteria on Blood Superoxide dismutase (SOD), Glutathione Reductase (GR) and Glutathione Peroxidase (Gpx) Activities in d-Galactosamine-induced Experimental Liver Injured Rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Blood Enzyme activities(U/g Hb)		
			SOD	GR	Gpx
Normal	-	6	2,218±73.4 ^{a)} (-)	33.3±2.0 ^{a)} (-)	785.2±20.2 ^{a)} (-)
Control	-	6	1,938±24.1 ^{##} (12.6)	169.9±13.1 ^{###} (410.1)	701.5±16.6 ^{##} (10.7)
AP	100	6	1,976±30.4 (13.6)	140.9±24.0 (21.2)	758.7±14.5* (68.3)
AP	400	6	2,127±71.9* (40.5)	113.8±5.0*** (41.0)	778.3±14.9** (91.8)
AP-F	100	6	2,033±76.5 (34.0)	89.7±8.8*** (58.7)	709.7±7.6 (9.8)
AP-F	400	6	2,068±44.0* (46.4)	55.3±9.0*** (83.9)	754.7±7.2** (63.5)
Silymarin	25	6	2,060±47.8* (43.5)	101.2±13.2*** (50.3)	784.5±6.8*** (99.2)

a); Mean±Standard error of 6 rats.

AP:80% Ethanol extract of *Artemisia princeps* PAMPANINI.

AP-F:Fermented agents of 80% ethanol extract of *Artemisia princeps* by lactic acid bacteria.

#;Statistically significant compared with normal data (#: $p<0.05$, ##: $p<0.01$ and ###: $p<0.001$)

;Statistically significant compared with control data (: $p<0.05$, **: $p<0.01$ and ***: $p<0.001$)

Parenthesis values are % of protection that is calculated as 100 (values of d-galactosamine control-values of sample)/(values of d-galactosamine control-values of normal).

군에서는 각각 3,517±135.5 IU/L와 4,203±221.4 IU/L로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.001$ 과 $p<0.05$ 의 유의한 혈청중 LDH 효소활성 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 그리고 저농도 100 mg/kg 처치군에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 없었다. 양성대조약물 silymarin 25 mg/kg 투여군에서도 혈청 중 AST, ALT 및 LDH 효소활성도는 대조군에 비하여 유의하게 상승억제시킴을 관찰할 수 있었다.

혈액 중 항산화효소활성에 미치는 효과 - d-Galactosamine 투여로 유발된 간장해 흰쥐의 혈액 중 SOD, GR 및 Gpx 효소활성에 미치는 검액 강화쑥(AP) 및 발효강화쑥(AP-F) 효과를 Table V에 제시하였다. 흰쥐에 d-galactosamine을 처치하면 혈중의 SOD 및 Gpx 효소활성도는 d-galactosamine 비처리 정상군에 비하여 유의하게 감소되며, GR 효소활성도는 유의하게 증가됨을 알 수 있었다.

혈액 중 SOD 효소활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 투여군에서는 각각 2,127±71.9 Unit/g Hb와 2,068±44.0 Unit/g Hb로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의한 감소억제효과를 관찰할 수 있었으며, 저농도 100 mg/kg 처치군에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 유의차는 없었다.

또한 GR 효소활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 처치

군은 각각 113.8±5.0 Unit/g Hb과 55.3±9.0 Unit/g Hb로 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 $p<0.001$ 의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 한편 저농도 100 mg/kg 처치군에서 AP 처치군은 별다른 영향을 미치지 못하였으나, AP-F 처치군에서는 89.7±8.8 Unit/g Hb로 대조군에 비하여 $p<0.001$ 의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 그리고, Gpx 효소활성은 검액 AP 및 AP-F 400 mg/kg 처치군은 각각 778.3±14.9 Unit/g Hb와 754.7±7.2 Unit/g Hb로 d-galactosamine 처치군에 비하여 $p<0.01$ 의 유의한 감소억제효과를 나타내었다. AP 저농도 100 mg/kg 처치군은 758.7±14.5 Unit/g Hb로 대조군에 비하여 $p<0.05$ 의 유의한 감소억제효과를 나타내었고, AP-F 100 mg/kg 처치군에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 없었다. 양성대조약물 silymarin 25 mg/kg 투여군에서도 혈액 중 SOD, GR 및 Gpx 효소활성도는 대조군에 비하여 유의한 개선효과를 관찰할 수 있었다.

고 찰

천연물은 기후, 토양 등 지형적 특성에 의하여 지역의 특산식품이 있으며, 강화쑥은 강화도의 특용작물의 하나로 예부터 사자발쑥, 씨주아리쑥으로 알려져 있고, 전초를 애엽

으로 한방에서도 널리 응용되고 있다. 천연물로부터 기능성을 지닌 식의약품 신소재 개발에 관한 연구는 많은 연구가 진행되고 있으며, 일반적으로 천연물로부터 생리활성 검색을 통하여 신규물질을 탐색하는 연구가 주를 이루고 있다. 또한, 근래에는 천연물 소재를 물리화학적 방법이나 생물학적 방법을 도입하여 새로운 활성물질이나 활성이 강한 화합물로 전환시킨 새로운 신소재를 개발하는 연구가 활성화되고 있다.

따라서, 강화숙을 소재로 하여 사람의 장내미생물을 이용하여 발효시킨 발효강화숙을 생리활성을 지닌 천연물 신소재로 개발하고자 사염화탄소 및 d-galactosamine으로 유발된 간장해에 대한 보호효과를 검토하였다.

강화숙의 발효는 사람의 장내미생물로부터 분리한 유산균 일종인 KH-525 균주를 이용하였으며, 강화숙 에탄올 추출물에 KH-525 균주를 이식하여 발효시킨 다음 동결건조한 것을 발효강화숙으로 하였다.²⁴⁾

우선 *in vitro*에서 발효강화숙의 간세포보호효과를 검토하고자 human hepatoma cell인 HepG2 cell을 이용하였다. HepG2 cell을 간장해물질인 *tert*-butylhydroperoxide(*t*-BHP) 처리로 유발된 세포독성에 대한 강화숙 및 발효강화숙의 보호효과를 검토한 바 25 µg/ml 농도에서 발효강화숙이 약 3배까지 보호효능이 증가됨을 알 수 있었으나 농도의존성을 나타내지 않았다.

간장해를 유발시키는 독성약물로서 사염화탄소, 에탄올, d-galactosamine, ethionine, aflatoxin, chloroform, α -naphthylisothiocyanate(ANIT) 등이 이용되고 있다. 이들 약물은 전반적으로 생체내에서 약물대사효소 등에 의하여 활성물질로 되어 간세포의 파괴나 담즙대사장애 등에 의하여 간장해를 초래하는 것으로 알려져 있다.^{26-28,32-34)} 한편 간장해의 지표로는 손상된 간으로부터 혈액으로 방출되는 transaminase(ALT & AST), alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH) 등의 효소활성도를 측정하여 평가하고 있다.

강화숙 및 발효강화숙의 간장해 보호효과를 평가하고자 급성 간독성을 유발하는 것으로 알려진 사염화탄소를 간독성물질로 하여 흰쥐에 경구투여하여 병태모델을 작성하였다. 사염화탄소는 체내로 흡수되면 cytochrome P450 대사 효소계에 의하여 OOC_2Cl_2 를 형성하거나 지질과산화물을 일으키며 단백질이나 지방과도 공유결합을 형성함으로써 간중심부 괴사(centrilobular necrosis), 단백질합성 억제, 지방변성 등을 야기시켜 간독성을 일으키는 것으로 알려져 있다.³⁵⁻³⁷⁾

강화숙 및 발효강화숙을 전투여하고 사염화탄소를 투여하여 검액의 간장해보호효과를 혈액중의 효소활성도를 지표로 평가하였다. 간손상도의 지표로 사용되는 ALT, AST 등의 효소활성도는 간독성으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 혈액에 방출되어 효소활성도가

증가하는 것으로 알려져 있다.³⁸⁾ 따라서, 사염화탄소만을 처치한 대조군은 비처리 정상군에 비하여 혈청 중 ALT, AST, ALP 및 LDH 효소활성도가 유의하게 증가되었다. 검액 강화숙 400 mg/kg 투여군에서는 ALT 및 LDH 효소활성도에 대하여 $p < 0.05$ 의 유의한 상승억제효과가 인정되나 AST 및 ALP 효소활성도에 대해서는 상승을 억제시키는 경향을 보였다. 반면에 검액 발효강화숙 400 mg/kg 투여군에서는 AST, ALT, ALP 및 LDH 효소활성도를 유의하게 상승억제시킴이 인정되었고, 검액의 용량의존적으로 나타났다.

산소를 이용하는 생물체는 정상적인 대사과정에서 생성되는 생체내 장애물질인 free radical이 최근에 많은 관심을 가지게 되고 있다. 즉 반응성이 큰 reactive oxygen species (ROS)인 superoxide radical anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical 등이 지속적으로 생성하게 되어 생체의 장애물질로 축적되는 것으로 알려져 있다. 이와 같은 물질은 내적인 요인 이외에 UV, ozone, 공기오염, 사염화탄소 등과 같은 외부의 자극에 의해서도 생성된다.³⁹⁻⁴¹⁾ 따라서, oxygen species를 제거하거나 발생을 억제시키는 생체내 mechanism으로서 작동하는 효소로서 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(Gpx), glutathione S-transferase(GST) 등이 알려져 있다.⁴²⁾ 이들 효소는 oxygen species를 불활성화시키거나 제거함으로써 과산화반응을 중지시켜 조직손상 등을 방어하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.

따라서, 항산화활성과 관련된 혈청 효소인 superoxide dismutase(SOD), glutathione reductase(GR) 및 glutathione peroxidase(Gpx) 효소활성도를 측정하였다. 그 결과 사염화탄소만을 처치한 대조군의 SOD 및 Gpx 효소활성도는 사염화탄소 비처리 정상군에 비하여 유의하게 저하되었고, GR 효소활성도는 유의하게 증가됨을 알 수 있었다. 한편 검액 강화숙 400 mg/kg 처치군은 SOD, GR 및 Gpx 효소활성도를 각각 52.9%, 18.0% 및 54.0%의 유의한 개선효과를 나타내었다. 그리고, 발효강화숙 400 mg/kg 처치군에서는 SOD, GR 및 Gpx 효소활성도를 각각 79.0%, 54.1% 및 75.3%의 유의한 개선효과가 인정되었다.

간장해 유발물질로 아미노당으로서 RNA와 단백질 합성을 억제시키는 물질로 바이러스성 간염과 유사한 형태의 간세포괴사를 일으키는 물질인 d-galactosamine을 이용하여 간장해 병태모델 동물에서 간장해보호작용을 검토하였다.⁴³⁻⁴⁵⁾ 그 결과 d-galactosamine만 처치한 대조군은 비처리 정상군에 비하여 혈청 중 AST, ALT, ALP 및 LDH 효소활성도를

유의하게 상승시킴으로서 간장해가 유발됨을 알 수 있었다. 검액 강화숙 및 발효강화숙 400 mg/kg 처치군에서는 각각 간장해 지표로 측정된 AST, ALT, ALP 및 LDH 효소활성도의 상승을 유의하게 억제시킴이 인정되었다. 그리고, 혈액 중 항산화효소인 SOD, GR 및 Gpx 효소활성도에 대해

서 d-galactosamine 처치 대조군은 비처리 정상군에 비하여 유의한 변화를 관찰할 수 있었으며, 검액 강화쑥 및 발효강화쑥 각각 400 mg/kg 처치군에서는 대조군에 비하여 유의한 개선효과가 인정되었다.

이상의 실험결과로부터 강화쑥 및 강화쑥 유산균 발효물인 발효강화쑥은 각각 사염화탄소 및 d-galactosamine 처치로 유발된 간장해 병태모델동물에서 유의한 개선효과가 인정되었고, 이러한 효과의 일부는 산화적 stress에 대한 방어적 효과에 기인하는 것으로 사료된다.

결 론

강화특화작목으로부터 식의약품 신소재 탐색 및 개발 연구의 일환으로 *in vitro*에서 human hepatoma cell인 HepG2 cell에 대한 보호효과와 *in vivo*에서 사염화탄소 및 d-galactosamine 유발 간장해 병태모델 흰쥐를 사용하여 강화쑥과 발효강화쑥의 간장해보호효과를 평가하였다. 그 결과 HepG2 cell의 t-BHP에 대한 세포독성 보호효과와 사염화탄소 및 d-galactosamine 처치로 유발된 간장해 흰쥐에서 혈청 중 transaminase(AST & ALT) 및 lactic dehydrogenase 효소활성도에 대하여 유의한 상승억제효과가 인정되었다. 또한 혈액 중 항산화효소인 superoxide dismutase, glutathione reductase 및 glutathione peroxidase 활성도를 유의하게 개선시키는 효과가 인정되었다. 따라서 강화쑥 주정추출물 및 이 추출물의 유산균 발효물인 발효강화쑥은 간장해 보호효과가 있는 것으로 사료되며, 간장해 보호 기능성 물질로 기대된다.

사 사

본 연구는 강화농업기술센터의 강화특화작목의 식 의약품 소재개발 연구 지원비 (2005-2007)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

- Lee, S. J. (1975) Studies on the identification of Korean traditional folk medicine(I). *Korean J. Raw Med.*, **6**: 75-80.
- 이창복 (1982) 대한식물도감, 761. 향문사, 서울.
- 김두진 (2002) 한국 쑥문화 연구, 한양대학교 대학원 석사학위논문.
- 이태호 편저 (1977) 新訂對譯 方藥合編. 147. 행림출판사, 서울.
- 식품의약품안전청 (2006) 대한약전의 한약(생약)규격집, 248. 도서출판 동원문화사, 서울.
- 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男 (1980) 和漢藥物學, 165. 南山堂, 東京.
- Cho Y. H. and Chiang M. H. (2001) Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. *Kor. J. Intl. Agri.*, **13**: 313-320.
- Ryu S. N., Kamg S. S., Kim J. S. and Ku B. I. (2004) Quantitative analysis of eupatilin and jaceosidin in *Artemisia herba*. *Korean J. Crop. Sci.*, **49**: 452-456.
- 방면호, 김동현, 유종수, 이대영, 송명중, 양혜정, 정태숙, 이경태, 최명숙, 정해근, 백남인 (2005) 식물식물자원으로부터 활성물질의 탐색-XIV. 사자발쑥(*Artemisia herba*)의 전초로부터 flavonoid 화합물의 분리. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **48**: 418-420.
- 전국한의학대학 본초학교수 공편저 (1991) 본초학, 405. 도서출판 영림사, 서울.
- Lee E. B. (1995) The effect of *Artemisia Herba* on gastric lesion and ulcers in rats with isolation of eupatilin, in Unesco Regional Seminar on the Chemistry, Pharmacology and Clinical use of flavonoid compounds. Oct. 11-15. Chungnam National University. Taejon, Korea. 13-20.
- 오테영, 류병권, 박정배, 이상득, 김원배, 양중익, 이은방 (1996) 애엽추출물, DA-9601의 실험적 위궤양 모델에 대한 항궤양 효과 및 기전연구. *응용약물학회지*, **4**: 111-121.
- Oh T. Y., Ryu B. K., Yang J. I., Kim Y. B., Park J. B., Lee S. D. and Lee E. B. (1996) Studies on antiulcer effects of DA-9601, an *Artemisia Herba* extract, against experimental gastric ulcer and its mechanism. *J. Appl. Pharmacol.*, **4**: 111-121.
- Oh T. Y., Ryu B. K., Ko J. I., Ahan B. Y., Kim S. H., Kim W. B., Lee E. B., Jin J. H. and Hahm K. B. (1997) Beneficial effect of DA-9601, an *Artemisia Herba* extract, against naproxen-induced gastric damage in arthritic rats. *Arch. Pharm Res.*, **20**: 414-419.
- Oh T. Y., Ahn G. J., Choi S. M., Ahn B. O. and Kim W. B. (2005) Increased susceptibility of ethanol-treated gastric mucosa to naproxen and its inhibition by DA-9601, and *Artemisia asiatica* extract. *World J. Gastroenterol.*, **47**: 7450-7456.
- Twajj H. A. and Badr A. A. (1988) Hypoglycemic activity of *Artemisia gerba alba*. *J. Ethnopharmacol.*, **24**: 123-126.
- 김미향 (2006) 쑥이 갱년기 장애 유도 흰쥐의 혈중 지질 및 결합조직 중 Collagen 함량에 미치는 영향. *생약학회지*, **37**: 324-330.
- Koshihara, Y., Neichi, T., Murota, S., Lao, A., Fujimoto Y. and Tatsuno T. (1983) Selective inhibition of 5-lipogenase by natural compound isolated from Chinese plants, *Artemisia rubripes* Nakai. *FEBS Lett.*, **158**: 41-44.
- Seo H. J. and Surh Y. J. (2001) Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from *Artemisia* plants, induce apoptosis in human promyelocytic leukemia cells. *Mutat Res.*, **496**: 191-198.
- Heo H. J., Cho H. Y., Hong B., Kim W. B., Kim E. K., Kim B. G. and Shin D. H. (2001) Protective effect of 4',5-dihy-

- droxy-3',6,7-trimethoxy flavone from *Artemisia asiatica* against AB-oxidative stress in PC12 cells. *Amyloid.*, **8**: 194-201.
21. Klayman, D. L. (1985) Qinghaosu(artemisinin): an antimalarial drug from China. *Science.*, **228**: 1049-1055.
 22. Luo, X. D. and Shen, C. C. (1987) The chemistry, pharmacology and clinical applications of Qinghaosu(artemisinin) and its derivatives. *Med. Res. Rev.*, **7**: 29-52.
 23. 류수노, 한상숙, 김관수, 정해곤 (2006) 수집약쑥의 유효성분 함량변이. *한국작물학회지.*, **51**(S): 220-223.
 24. Lee, S. H., Shin Y. W., Bae E. H., Lee B., Min S. W., Baek N. I., Chung H. G, Kim N. J. and Kim D. H. (2006) Lactic acid bacteria increase antiallergic effect of *Artemisia princeps* Pampanini SS-1. *Arch. Pharm. Res.*, **29**: 752-756.
 25. Lin L. T., Liu L. T., Cjiang L. C. and Lin C. C. (2002) *In vitro* Anti-hepatoma activity of fifteen natural medicines from Canada. *Phytother. Res.*, **16**: 440-444.
 26. S. Maeda, K. Sudo, Y. Miyamoto, S. Takeda, M. Shinbo, M. Aburada, Y. Ikeya, H. Taguchi and M. Harada (1982) Pharmacological studies on Schzandra Fruits. II. *Yakugau Zasshi.*, **102**: 579-588.
 27. Vimal, V. and Devaki, T. (2004) Hepatoprotective effect of allicin on tissue defense system in galactosamine/endotoxin challenged rats, *J. Ethnopharmacol.*, **90**: 151-154.
 28. Lin, C. C., Shieh, D. E. and Yen, M. H.(1997) Hepatoprotective effect of the fractions of Ban-zhi-lian on experimental liver injuries in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **56**: 193-200.
 29. Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic acid and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**: 56-63.
 30. Anh, D. J., Eden, A. and Farley, J. R. (2001) Quantitation of soluble and skeletal alkaline phosphatase, and insoluble alkaline phosphatase anchor-hydrolase activities in human serum. *Clinica. Chimica. Acta.*, **311**:137-148.
 31. Wroblewski F. and LaDue J. S. (1955) Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **90**: 210-213.
 32. 小澤 光 監修 (1984) 新薬開発のための薬效スクリーニング法. 69. 清至書院, 東京.
 33. 阿部博子, 戸田静男, 大井久代, 久保道德, 有地 滋 (1978) D-galactosamine에代する사이코사포닌의作用. 和漢藥シンポジウム., **11**: 7-10.
 34. 박은전, 김재백, 손동환, 고건일 (1997) 실험적 간경화 병태모델 비교. *약학회지.*, **41**: 622-628.
 35. McCay, B. P., Lai, E. K., Poyer, J. L., DuBose, C. M. and Jansen, E. G. (1984) Oxygen and Carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism, *J. Biol. Chem.*, **259**: 2135-2143.
 36. Rechnagel, R. O. and Glende, E. A. Jr. (1973) Carbon tetrachloride hepatotoxicity : an example of lethal cleavage. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, **2**: 263-297.
 37. Gravela, E., Albano, E., Dianzani, M., Poli, G and Slater, T. (1979) Effects of carbon tetrachloride on isolated rat hepatocytes. *Biochem. J.*, **178**: 509-512.
 38. Hayes (1982) Principles and Method of Toxicology, 407. Gabriel L. Plaa and William R. Hewitt. Raben Press.
 39. Terry, D. Oberley, Janice L. Schultz, Ning Li and Larry W. Oberley (1995) Antioxidant enzyme levels as a function of growth state in cell culture. *Free Radical Biol Med.*, **19**: 53-65.
 40. Shindo, Y. and Hashimoto, T. (1997) Time course of changes in antioxidant enzymes in human skin fibroblasts after UV irradiation. *J. Dermatol. Sci.*, **14**: 225-232.
 41. 김안근, 김지현 (2001) 산화적 스트레스 및 항산화제가 항산화효소 활성화에 미치는 영향. *응용약물학회지.*, **9**: 249-257.
 42. Zoltn Gregus and Curtis D. Klaassen (1996) Mechanisms of toxicity. In Casarett and Doull's toxicology. 39. Mcgraw-Hill Com. New York.
 43. Keppler, D. and Decker, K. (1969) Studies on the mechanism of galactosamine hepatitis ; Accumulation of galactosamine-1-phosphate and tis inhibition of UDP-glucose pyrophosphorylase. *Eur. J. Biochem.*, **10**: 219-225.
 44. Decker, K., Keppler, D. and Pausch, J. (1973) The regulation pyridine nucleotide level and its role in experimental hepatitis. *Adv. Enzyme Regul.*, **11**: 205-230.
 45. Farber, J. L., Gill, G and Konishi, Y. (1973) Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. *Am. J. Pathol.*, **72**: 53-62.

(2007년 8월 7일 접수)