

决明子在 흰쥐 肝損傷에 미치는 影響에 관한 研究

藥品化學科

劉 演 美 · 梁 基 淑 · 李 德 行

Studies on the Effect of *Cassiae Semen* against Liver damage in Rats

Pharmaceutical Chemistry Division

Yeoun Mi Yoo, Ki Sook Yang, Deuk Heng Lee

= Abstract =

Serum transaminase activity was measured to investigate the liver-protective activity of *Cassiae Semen* against CCl₄-induced liver damage in Rats.

As a result, *Cassiae Semen* showed to inhibit the elevation of S-GOT and S-GPT levels significantly.

緒 論

결명자는 콩과(Leguminosae)에 속하는 1년생 草本인 결명초 *Cassia tora* Linne의 종자로¹⁾ 견고하고 윤택한 암적갈색의 종피를 가진 길이 3~6mm, 지름 2~3.5mm의 불규칙한 菱柱形의 粒子이며, 우리나라 각지와 中國에서 재배되고 있다.^{2,4-6)}

이 식물은 민간에서 肝熱,^{1,3,7-9)} 明目,^{1,3-6)} 緩下,^{1,4-6)} 利尿,⁴⁻⁶⁾ 建胃^{5,6)} 및 茶^{6,10)}로써 이용되어 왔다.

결명자에 관한 成分研究로는 emodin, rhein 등의 anthraquinone 및 naphthalene 유도체등이 알려져 있으며,^{1,10-15)} 또한 methionine, tryptophan 등의 아미노산과 무기성분, 지방유가 보고되어 있다.^{11,16,17)}

藥理作用으로는 정유에서 추출된 휘발성 물질과 煎液의 항진균 효과,^{10,18,19)} 水劑 엑기스의 항종양 효과, 혈압강화작용, 완하작용 및 위액분비 촉진작용등이 보고되었다.^{11,20)} 또한, 메탄올 엑기스의 마우스를 이용한 保肝效果에 대한 예비검색이 보고되어 있는 바,^{21,22)} 著者等은 사염화탄소 중독을 유발시킨 흰쥐에 대하여 결명자 煎劑 엑기스를 투여한 후, 血清中 transaminase (S-GOT, S-GPT) 활성도를 측정하여 유의한 結果를 얻었기에 보고하고자 한다.

材料 및 方法

1) 材 料

本 實驗에 이용한 결명자(*Cassia tora* L.)는 市中 견제 한의원에서 구입하여 사용하였으며, 實驗動物로는 Sprague-Dowley系 雄性 흰쥐를 1주동안 고형 사료와 상수를 충분히 공급하여 실험실 환경에 適應시킨 후 체중 140~180g의 것을 使用하였다.

器機 및 試藥 : UV/VIS Spectrophotometer (Perkin-Elmer 552S), 사염화탄소(G.R. Kanto Chemical Co. INC), Methionine Standard (KNIH), S-GOT, S-GPT 測定用 試藥(Wako pure Chemical IND., Ltd.)

2) 方 法

試料液의 調製 : 결명자를 곱게 분쇄하여 1kg을 取해 물을 加하여 가운 추출하고, 수욕상에서 농축하여 엑기스로 하였다. 이 엑기스 10g을 3% gum arabic physiological saline에 현탁시켜 100ml가 되게 하였다.

CCl₄의 中毒 및 藥物 投與法 : 흰쥐 6마리를 1群으로 하여 Saline群, CCl₄群, Methionine群과 Sample群으로 나누는 후 Saline群을 control로 CCl₄群은 positive control로 하여 Table I과 같이 실시하였다. 肝損傷을 일으키

Table I. Administration schedule

Group	Day 1	2	3	4	5
Saline群	saline	saline	saline	saline	sampling
CCl ₄ 群	saline	CCl ₄ +sal.	CCl ₄ +sal.	saline	//
Methionine群	meth.	CCl ₄ +meth.	CCl ₄ +meth.	meth.	//
Sample群	Ex.	CCl ₄ +Ex.	CCl ₄ +Ex.	Ex.	//

기 위해 흰쥐의 체중에 따라 CCl₄액(1:1 in olive oil)을 1.0ml/kg되도록 경구투여 하였으며 3% gum arabic physiological saline에 현탁시킨 methionine 조제액(10 mg/ml)은 100mg/kg, 시료액(100mg/ml)은 1g/kg을 CCl₄액을 투여한 1시간후에 각각 경구투여 하였다.²²⁻²⁵⁾ (Table I)

採血 및 血清分離法: CCl₄投與 36時間 後에 각 흰쥐를 ether로 가볍게 마취시키고 心臟으로부터 採血하여 3000rpm에서 20分間 遠心分離시켜 血清을 取하여 使用하였다.²⁶⁻²⁸⁾

血清 transaminase 活性度 측정법: 血清中 serum glutamic oxaloacetic transaminase (S-GOT) 및 serum pyruvic transaminase(S-GPT)의 活性度を Reitman-Frankel法에 準하여 測定하였다. 즉, 各 test tube에 緩衝基質液 0.5ml씩을 取하여 넣고, 37±1°C water bath에서 5分間 加溫한 다음 血清 0.1ml를 加하고 37±1°C에서 S-GOT인 경우 1時間, S-GPT인 경우 30分間 加溫한 後 發色液 dinitrophenyl hydrazine (DNPH)을 0.5ml씩 加하여 室溫에서 20分間 방치하고 0.4N-NaOH용액을 5ml넣어 잘 混和하여 5分間 방치한 다음 증류수를 對照로 하여 505nm에서 吸光度를 測定하였으며, 따로 標準液(2mM Pyruvate)을 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4ml를 各各 test tube에 取하여 緩衝基質液 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6ml 및 증류수 0.2ml, 발색액(DNPH) 1.0ml를 加하여 실온에서 20分間 방치한 후 上記와 동일한 操作에 의해서 Calibration-curve를 作成하여 이 curve로 부터 R.F. unit의 S-GOT, S-GPT값을 구하였다.^{25,29,30)}

結果 및 考察

動物의 肝은 再生 能力이 强하여 肝毒性 物質인 사염화탄소의 대량 투여시에는 투여 24時間에 肝의 퇴행 性변화가 가장 심하게 일어나, 점차로 회복되어 일주일이던 대략 正常에 가까와지는데,^{31,32)} 이는 약물 대사 효소에 의해 매우 반응적인 CCl₃ radical이 CCl₄로부터 生成되어 hepatocytes에 대해 肝損傷을 일으킨 때

문이라고 한다.^{25,30)} 肝損傷 障害의 判定을 위해, transaminase가 肝損傷정도에 비례해서 hepatocytes에서 血液로 유리되어 나오는 性質을 利用하여 S-GOT, S-GPT를 測定하였다. S-GOT, S-GPT의 活性度の 測定은 心臟 및 肝 膽道疾患의 진단에 임상적으로 이용되며 특히, 急性肝炎의 경우에 뚜렷한 診斷上의 지표가 되고있어 CCl₄에 의해 간손상을 일으킨 흰쥐에 대한 sample群의 작용을 control 및 positive control과 비교하였다.^{25,29)}

이 實驗에서 control group인 saline群은 S-GOT 39.00±4.19, S-GPT 30.70±6.55임에 비해 positive control group인 CCl₄群은 S-GOT 62.60±3.87, S-GPT 73.88±3.83으로 S-GOT는 60.5% (p<0.05), S-GPT는 140.7%(p<0.01)의 증가율을 나타내었으므로 CCl₄에 의한 肝損傷이 현저하게 일어났음을 알수있다. Methionine群은 S-GOT 54.56±1.26, S-GPT 56.60±5.17로 CCl₄에 의해 증가된 효소 활성을 S-GOT경우는 34.1%(p<0.10), S-GPT는 40.0%(p<0.05) 감소시켰으며, control group에 비해서는 S-GOT 39.9%(p<0.05), S-GPT 84.4% (p<0.05)증가되었다. sample群인 Cassiae Ex. group은 S-GOT 43.33±1.51, S-GPT 57.75±2.88로 各各 81.7% (p<0.01), 37.4% (p<0.05)의 positive control group에 대한 억제율과, 11.1% (p<0.40), 88.1% (p<0.01)의 control group에 대한 증가율을 나타내었으므로, sample群인 Cassiae

Table II. Effect of CCl₄ and Sample on S-GOT Activity in Rats.

Group	S-GOT R.F. units (Mean± S.E.)	Comparison with CCl ₄ (Inhibition %)	Comparison with Saline (Increase %)
Saline	39.00±4.19	—	—
CCl ₄	62.60±3.87	—	60.5**
Methionine	54.56±1.26	34.1*	39.9**
Sample	43.33±1.51	81.7***	11.1

*p<0.10

**p<0.05

***p<0.01

Table III. Effect of CCl₄ and Sample on S-GPT Activity in Rats.

Group	S-GPT R.F. units (Mean ± S.E.)	Comparison with CCl ₄ (Inhibition %)	Comparison with Saline (Increase %)
Saline	30.70 ± 6.55	—	—
CCl ₄	73.88 ± 3.83	—	140.7***
Methionine	56.60 ± 5.17	40.0**	84.4**
Sample	57.75 ± 2.88	37.4**	88.1***

*p < 0.10

**p < 0.05

***p < 0.01

Ex.는 S-GOT, S-GPT 活性도를 감소시켜 CCl₄로 손상된 간기능 장애에 대해 유의적인 영향을 미친 것으로 思料된다. (Table I, III)

結 論

결명자煎劑 엑기스의 흰쥐에 대한 肝疾患치료제로서의 효능성을 검토하고자, 血清中 transaminase의 活性도를 측정하였다. 그 결과 결명자 엑기스는 사염화탄소에 의해 손상된 간의 효소 활성을 S-GOT 81.7%, S-GPT 37.4%로 유의성있게 억제시켰으며, 이는 비교약물인 Methionine의 간효소활성 억제효과와 유사함을 나타내었다.

參 考 文 獻

1. 金最壽: 標準 本草學, 進明出版社 p.100 (1975)
2. 鄭台鉉: 韓國植物圖鑑 下卷 草本部 p.334 (1956)
3. 李時珍: 圖解本草綱目 24卷 p.617 (1597)
4. 陸昌洙: 韓國藥品植物資源圖鑑, 進明出版社 p.202 (1981)
5. 稻垣勲, 嶋田玄彌: 生藥學, 東京南江堂 p.148 (1977)
6. 韓德龍: 現代生藥學, 進明出版社 p.149 (1980)
7. Yun, G.Y.: Oriental Prescriptions, Mineru-Sa, Seoul, Korea (1964)
8. "Herbal Pharmacology in the People's Republic of China"—a Trip report of the American Herbal Pharmacology Delegation: National Academy of Science, Washington D.C. (1975)
9. Heh, Joon: Secrets of Oriental Medicines Korean Translation, Pyungyun Publishing Seoul (1966)

10. 高木敬次郎: 和漢藥物學, 南山堂 p.132 (1982)
11. 柴田承二, 糸川秀治, 三川潮, 庄司順三, 瀧戸道夫: 藥用天然物質, 南山堂 p.468 (1982)
12. 東京生藥研究會編: 漢方藥の評價と開發技術 株式會社 CMC. p.313 (1983)
13. M. Kaneda: Chemical studies on the Oriental Plant Drugs XXI, Chem. Pharm. Bull. 17:458 (1969)
14. Kashioka, Masaji: Takino, Yoshio: Studies on the evaluation of crude drugs I. Quantitative estimation of anthraquinones in *Cassia seeds*, Chem. Pharm. Bull. 26:1343 (1978)
15. Idem: Studies on the evaluation of crude drugs IV, Shoyakugaku Zasshi 33:72 (1979)
16. Katiyar, Santosh Kumar, Niranjana, Govind Singh: Studies on Carbohydrates and amino acids of some noncultivated leguminous seeds, J. Indian Chem. Soc. 58:98 (1981)
17. Singh, R.P., Suri, R.K., Sharma, S.D. and Jain, P.P.: Chemical investigation on *Cassia tora L.* seeds, J. Inst. Chem. 53:230 (1981)
18. Acharya, T.K. and Chatterjee, I.B.: Isolation of chrysophanic acid-9-anthrone, a fungicidal compound, from *Cassia tora.*, Sci. Cult. 40:316 (1974)
19. Pandey, D.K., Chandra, H. and Tripathi, N.N.: Volatile fungitoxic activity of some higher plants with special reference to that of *Callistemon lanceolatus* DC., Phytopathol. Z. 105:175 (1982)
20. 李廣粹: 中國醫學科學院 1956年論文報告會論文摘要 1956年 II, 70, 科學出版社 中國 p.199 (1975)
21. Chang, I.M. and Yun, H.S.: Plants with liver protective activities I., Kor. Pharmacog. 8:125 (1977)
22. Idem.: Plants with liver protective activities III, Kor. J. Pharmacog. 10:79 (1979)
23. Idem.: Plants with liver protective activities IV, Kor. J. Pharmacog. 11:57 (1980)
24. Idem.: Plants with liver protective activities II. Potential hepatotonic activities of *Plantago asiatica Seed.*, Kor. J. Pharmacog. 9:139 (1978)
25. Yoshinobu, Kiso and Yuriko, Suzuki: Application of carbon tetrachloride—induced liver lesion in mice for screening of liver protective crude

- drugs, Shoyakugaku Zasshi 36:238 (1982)
26. An, D.G. and Kim, J.J.: Studies on the therapeutics for liver diseases in herb remedies V, K.H. Univ. O. Med. J. 1:25 (1978)
 27. Ryu, K.W. and Koo, B.H.: Effect of Kamidaegumeumja on the ethanol induced liver damage in rats, K.H. Univ. O. Med. J. 3:1 (1980)
 28. Lim, J.H., Woo, H.J., Kim, B.W. and Kim, J. J.: Effect of Cheong—Gan—Geon—Tang according to different of *Artemisiae capillaris Herba* to CCl₄-poisoned liver damage in rat, K.H. Univ. O. Med. J. 3:213 (1980)
 29. 金井正光: Transaminase의測定, 臨床檢査法提要, XII-52 日本金原出版社(1975)
 30. 井上正, 松本一彦: 圖說動物實驗의 手技手法 (1981)
 31. Kang, S.K.: A histopathological study of mouse liver in carbon tetrachloride intoxication with special reference to the histochemical changes, Woo Suk Univ. M.J. 6:15 (1969)
 32. Kim, T.W.: Observation of mouse liver and gastrointestinal tract after the injection of carbon-tetrachloride and partial hepatectomy, Woo Suk Univ. M.J. 6:1 (1969)
 33. Slater, T.F.: Necrogenic action of CCl₄ in the rat, Nature 209:36 (1966)

Fifty five crude drugs and the decoctions prepared from them were subjected to analysis of seven metals by atomic absorption spectrometry. The proportion of the metal contents in parent crude drugs to those in the decoctions prepared therefrom (%) are as follows:

Fe 1.8 to 87.0, Cu 1.5 to 85.9, Mn 0.4 to 86.0, Zn 0.1 to 89.0, Ca 1.0 to 77.1, Na 1.7 to 92.5, K 3.8 to 92.1

五十五種生藥及其煎劑，均經原子吸收光譜法測定七種金屬之含量。生藥中金屬含量與煎劑中金屬含量之百分比如下：

Fe 1.8 to 87.0, Cu 1.5 to 85.9, Mn 0.4 to 86.0, Zn 0.1 to 89.0, Ca 1.0 to 77.1, Na 1.7 to 92.5, K 3.8 to 92.1

本報告係根據原子吸收光譜法測定五十五種生藥及其煎劑中七種金屬之含量。生藥中金屬含量與煎劑中金屬含量之百分比如下：

Fe 1.8 to 87.0, Cu 1.5 to 85.9, Mn 0.4 to 86.0, Zn 0.1 to 89.0, Ca 1.0 to 77.1, Na 1.7 to 92.5, K 3.8 to 92.1

Table I. Analytical condition

Element	Condition	Range	Slit width	Air flow rate (l/min)	Acetylene flow rate (l/min)	Lamp current (mA)	Wave length (nm)
Na	295-vis	20	4(0.7)	14	5	12	589.0
K	383-vis	20	4(0.7)	14	5	12	766.5
Fe	248.3	10	—	7.8	2.2	15	248.3
Cu	324.8	20	—	7.8	2.2	15	324.8
Mn	279.5	10	—	7.8	2.2	5	279.5
Zn	213.8	10	—	7.8	2.2	10	213.8
Ca	423.8	10	—	7.8	2.2	10	423.8