

곰벵이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물의 간기능개선 효과 및 단회독성 평가

조월순¹ · 남병혁¹ · 오수정¹ · 최유진¹ · 강은영¹ · 홍숙희¹ · 이상호² · 정민호^{1,*}

¹동아대학교병원 임상시험연구센터, ²서귀포시 농업기술센터

Hepatic Protective Effect and Single-dose Toxicity Study of Water Extract of *Cordyceps militaris* Grown upon *Protiaea dreujtarsis*

Wol-Soon Jo¹, Byung-Hyouk Nam¹, Su-Jung Oh¹, Yoo-Jin Choi¹, Eun-Young Kang¹,
Sook-Hee Hong³, Sang-Ho Lee², and Min-Ho Jeong^{1,*}

¹Dong-A University Medical Science Research Center, Clinical Research Center

²Seogwipo Agricultural Technique Center

Abstract This study was designed to evaluate the single dose toxicity and the protective effect of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protiaea dreujtarsis* (CMPD extract) on liver damage on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced acute hepatotoxicity in Sprague-Dawley (SD) rats. The CMPD extract was once administered orally to both sexes of rats at dose of 2,000, 1,000 and 500 mg/kg body weight, the recommended maximum limit dose for acute toxicity. Neither significant toxic signs nor death was observed during the observation period. These results indicate that LD₅₀ (lethal dose of 50%) of CMPD extract is greater than 2,000 mg/kg body weight in SD rats. To investigate also the effect of hepatoprotection of CMPD extract, SD rats were orally treated with CMPD extract (50, 25 and 12.5 mg/kg body weight) or silymarin (25 mg/kg body weight) before and after administration of CCl₄ (2 mL/kg body weight, 20% CCl₄ in olive oil). Treatment with CMPD extract or silymarin could decrease the GPT (glutamic-pyruvic transaminase) and GOT (glutamic-oxaloacetic transaminase) levels in serum when compared with CCl₄-treated group. Therefore, the results of this study show that CMPD extract can be proposed to protect the liver against CCl₄-induced hepatic damage in rats.

Key words: *Cordyceps militaris*, *Protiaea dreujtarsis*, toxicity, hepatoprotection, liver, CCl₄

서 론

간은 인체에서 가장 큰 장기이며, 소화배설기능, 영양소 저장, 새로운 물질합성, 해로운 화학 물질을 해독시키는 중요한 역할을 담당하고 있다. 한편 간은 혈액의 흐름이 매우 풍부한 기관으로 혈류를 통한 독성 물질의 침투도 용이하게 일어날 수 있다. 만성적인 에탄올 섭취의 경우에도 간세포에 장애를 초래하여 알코올성 간염, 지방간 및 간경변을 초래할 수 있다(1). 이러한 간질환은 한국인에 있어서 암, 당뇨 병과 함께 가장 발생빈도가 높은 것으로 조사되고 있고, 간암에 의한 사망률은 세계에서 가장 높은 것으로 조사되고 있다. 간손상으로 인한 간장애에 대하여 다양한 치료약이 개발되어 사용되고 있으나 결정적으로 유효한 약물은 별로 없으며, 우리나라를 비롯하여 동아시아 지역에서는 천연물을 기원으로 하는 한약재를 조합한 한방제가 경험적으로 널리 이용되고 있다(2). 일반적으로 간손상 치료 또는 보호 약물을 개발할 목적으로 사염화탄소(CCl₄), D-galactosamine 등 화학물질

을 처리하여 간손상을 유도한 실험동물 모델을 활용하고 있다(3-6). 특히 CCl₄는 mixed function oxidase(MFO) 효소계 활성화에 의해 trichloromethyl free radical(\cdot CCl₃)로 활성화된다(7). 생성된 free radical은 인근 지질막을 공격하여 지질의 과산화를 일으키거나(8), 세포내의 단백질이나 지질등의 macromolecules와 결합하여(9), 간의 괴사, fatty infiltration, microsomal enzyme 활성저하 등의 간독성을 나타내고, endoplasmic reticulum의 Ca²⁺ pump를 억제하여 세포내 Ca²⁺ homeostasis를 저해하여 세포의 죽음을 초래하는 것으로 알려져 있다(10-13). 한편 이러한 유리기에 대하여 생체 조직은 superoxide dismutase, glutathione S-transferase, catalase 등과 같은 내인성 제거물질(14)과 식품에 많은 vitamin A, C, E, flavonoid계 색소를 포함한 polyphenol류 등의 생리활성 물질들을 활용하여 조직손상을 방어한다(15).

밀리타리스 동충하초는 주로 나비목(Lepidoptera)의 유충 또는 번데기를 기주로하여 주황색의 곤봉형자좌를 형성하는 곤충기생균(Entomopathogenic fungi)의 일종으로 인공재배가 활발하게 이루어지고 있다. 여기에는 에너지원인 탄수화물이나 당의 비율은 낮지만 비타민 A와 미네랄 등이 다른 종에 비해 풍부하게 함유되어 있으며(16,17), 2차 대사산물인 cordycepin 등의 생리활성물질로 인하여 건강기능성 식품으로의 인지도가 높아지고 있다. 지금까지 보고에서는 당뇨쥐에서 혈당강화작용 및 면역세포 탐식능 강화작용, 항암 및 항산화작용(19), 스트레스 억제, 피로회복 및 간보호작용(19,20), 천식에 대한 작용(2,19), 방사선 방호 효과

*Corresponding author: Min-Ho Jeong, Department of Microbiology, College of Medicine, Dong-A University, Dongdaesin-dong, Seo-gu, Busan 602-714, Korea
Tel: 82-51-240-2865
Fax: 82-51-242-7265
E-mail: mhjeong@dau.ac.kr
Received September 17, 2007; accepted November 29, 2007

(19)등 다양한 기능성이 알려져 있으며, 최근 밀리타리스 동충하초의 효능연구와 더불어 이들을 이용한 급성단회경구투여 독성 자료에서 독성이 나타나지 않은 것으로 보고되고 있다(2). 또한 제주자생 흰점박이 꽃무지풍뎅이(곰팡이; *Protaetia dreujtarsis*)도 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 곰팡이로부터 분리한 생리활성물질은 세균에 대한 높은 항균력을 나타낸 것으로 확인되었으며, 수침액은 CCl₄ 및 에탄올로 유도된 간손상으로 부터 보호효과가 있는 것으로 보고 되었다.

본 연구에서는 제주자생 흰점박이 꽃무지풍뎅이(곰팡이)를 기주로하여 인공배양한 밀리타리스 동충하초 열수추출물을 대상으로 CCl₄로 유도한 간손상실험 동물 모델에서의 간보호효과를 확인하고, 단회투여 독성시험을 통해 생체내 안전성자료를 확보하였다.

재료 및 방법

시험물질

곰팡이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)은 갈색고형분말로 서귀포시 농업기술센터(Seogwipo, Korea)에서 제공받았다. 즉 곰팡이 유래 밀리타리스 동충하초 시료 100 g에 500 mL의 3차 증류수를 넣고, 70°C 온도에서 1시간 동안 가열 교반하면서 추출하였다. 이들 열수추출액을 필터한 후 여과액으로부터 HPLC를 이용하여 지표성분인 cordycepin의 함량을 측정하였으며, 본 시험에 사용한 시험물질은 건조중량 1 g 당 4.62 mg의 코디세핀을 함유한 로트를 4°C에 보관하면서 사용하였다. 시험물질 조제는 당일에 멸균된 3차 증류수에 용해시켜 사용하였다.

설치류 단회투여 독성시험

시험동물 및 사육환경: 시험동물은 5주령의 SD rat을 (주)오리엔트(Orient Bio Inc, SeongNam, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 동물 입수 후 검역과 7일간의 순화기간을 거쳐 시험실시 하루 전 암수 각각 5마리씩 배분하여 군분리를 시행하였다. 실험동물은 polycarbonate cage(폭 26 cm, 길이 42 cm, 높이 18 cm)에 넣은 다음, SPF 구역(온도; 19-25°C, 습도; 40-60%, 기류속도; 13-18 cm/sec, 환기횟수; 10-20 회/hr, 기압차; 2-10 mmH₂O, 명암 cycle; 07:00 점등-19:00 소등, 조도; 150-300 Lux)에서 자외선으로 멸균된 정제수와 실험동물용 사료(SAMTAKO BIO Inc, OSan, Korea)를 자유 섭식시키면서 사육하였다. 동물실험은 시험군간 변이요인을 최소화하기 위하여 제2005-60호(10.21)의 “의약품등의독성기준시험” 및 비임상관리 기준에 따라 실시하였다.

단회경구투여 독성시험: 본 연구에서는 시험물질의 최고 용량을 건강기능성식품의 단회독성시험에서 적용되는 최고용량 범위에 근거하여 2,000 mg/kg body weight로부터 공비2로 1,000, 500 mg/kg body weight의 3농도 시험군(A2, A3, A4) 및 음성대조군 (멸균증류수; A1)에 대하여 단회경구투여 독성시험을 실시하였다. 시험물질 경구 투여 후 1시간 동안은 지속적으로 관찰하고, 6시간까지는 매시간, 투여 익일부터는 매일 최소 1회씩 관찰하여 최종 14일간 이상반응을 관찰하였다. 체중은 입수 시, 군분리 시, 시험물질 투여 후 1일, 3일, 7일, 14일째에 측정하였고, 투여 14일 이후에 모든 생존동물은 외관검사를 실시한 다음 부검하여 육안적 이상소견을 검사하였다.

사염화탄소를 이용한 급성 간손상유발

시험동물 및 사육환경: 시험동물은 6주령의 수컷 SD rat를 (주)

오리엔트로부터 구입하여 시험군당 10마리씩을 사용하였다. 동물의 사육관리 및 사육 환경조건은 단회경구투여 독성 시험과정과 동일한 절차 및 환경에서 수행하였다.

시험군의 구성: 시험물질 50, 25, 12.5 mg/kg body weight 를 투여하는 시험물질군(G4, G5, G6)과 실리마린(25 mg/kg body weight)을 투여하는 양성대조군(G3), 부형제인 3차 증류수만을 투여하는 손상대조군(G2) 및 간손상을 유발하지 않은 음성대조군(G1)으로 구분하였다.

급성 간손상 유발 및 시험물질 투여: G2-G6군에서는 급성 간손상을 유발하기 위하여 12-16시간 절식한 SD Rat에 olive oil과 사염화탄소(CCl₄)를 1:4로 혼합한 용액을 2 mL/kg body weight 로 복강으로 투여하였다. 시험물질은 독성유발물질(CCl₄) 투여 6시간 전후 경구로 투여하였다. G1군은 손상유발물질 투여 과정 없이 부형제인 3차증류수를 6시간 전후 경구로 투여하였다.

혈액생화학적 검사: 손상유발물질 투여 48시간 후 에테르 마취하에 개복하여 복대동맥을 통해 채혈하였으며, 회수한 혈액으로부터 혈청을 분리하여 혈액생화학분석기(RAL Técnica para el Laboratorio, Barcelona, Spain)를 통해서 glutamic oxalate transaminase(GOT)와 glutamic pyruvate transaminase(GPT), 중성지방(triglyceride, TG), 총콜레스테롤(total cholesterol, TC), 고밀도 지질단백질(high density lipoprotein, HDL) 및 저밀도 지질단백질(low density lipoprotein, LDL)을 측정하였다(1,18,22).

조직슬라이드 제작: 독성유발물질 투여 48시간 후 에테르 마취하에 개복하여 간조직을 절취한 후, 10% 포르말린에 하룻밤 고정하고, 파라핀을 이용하여 포매한 다음, microtome 으로 4-5 μm 두께의 조직 샘플을 박절하여 슬라이드를 제작하였다. 이들 슬라이드로부터 Hematoxylin and Eosin(H&E)염색을 통해 간조직의 손상 정도를 관찰하였다(23).

통계학적 분석

단회경구투여 독성시험 및 간기능개선에 관한 효능평가 시험에서 체중변화 및 혈액생화학적 결과의 통계 분석은 SPSS(statistical package social science, version 12.0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하였다. 각 실험군마다 평균±표준오차로 표시 하였으며, 각 군의 유의성은 $p < 0.05$ 수준으로 ANOVA와 Scheffe test 에 의해 검증하였다.

결과 및 고찰

단회경구투여 독성시험

시험물질인 곰팡이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)의 LD₅₀(lethal dose of 50%) 값을 통한 안전성 자료를 확보하기 위하여 단회경구투여 독성 시험을 실시하였다. 모든 동물에 대한 임상증상관찰은 매일 최소 1회씩 최종 14일간 관찰하였다. 그 결과 음성대조군(A1)을 포함한 모든 시험물질 투여그룹(A2, A3, A4)에서 시험물질에 기인한 외견상의 임상적 증상변화도 관찰되지 않았으며, 사망 동물도 발생하지 않았다. 또한 시험물질 투여 후 0, 1, 3, 7, 14일째 측정된 체중에서도 암수 모든 군에서 대조군과 비교하여 유의성 있는 차이가 나타나지 않았으며(Table 1), 부검시 시험물질을 투여한 모든 군에서 어떠한 육안적 이상소견도 관찰되지 않았다(Table 2). 따라서 SD rat를 이용

Table 1. Clinical signs and body weight change of Sprague-Dawley rats orally treated with water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protaetia dreujtarsis* (CMPD)

Sex	CMPD dose (mg/kg)	No.	Sign	Day(s) after administration (Mean \pm S.D.)				
				0	1	3	7	14
Male	0	5	N	197.2 \pm 7.5	221.0 \pm 7.0	231.9 \pm 4.8	262.7 \pm 2.8	297.1 \pm 4.8
	500	5	N	199.1 \pm 7.1	216.7 \pm 8.2	230.0 \pm 9.7	259.8 \pm 12.0	294.9 \pm 17.5
	1,000	5	N	196.6 \pm 6.4	216.4 \pm 8.2	224.8 \pm 8.5	259.6 \pm 13.5	299.3 \pm 17.4
	2,000	5	N	195.4 \pm 7.9	214.7 \pm 8.6	223.8 \pm 9.1	258.7 \pm 10.1	297.9 \pm 10.3
Female	0	5	N	154.5 \pm 6.6	166.9 \pm 6.4	171.9 \pm 6.2	184.4 \pm 7.0	202.5 \pm 10.5
	500	5	N	156.0 \pm 5.1	165.4 \pm 5.0	173.4 \pm 5.5	184.6 \pm 8.3	211.3 \pm 10.3
	1,000	5	N	154.7 \pm 4.3	167.8 \pm 3.3	170.2 \pm 2.0	183.9 \pm 3.9	203.7 \pm 8.0
	2,000	5	N	153.9 \pm 4.9	161.9 \pm 7.3	165.9 \pm 5.4	181.3 \pm 8.9	197.3 \pm 9.4

No.: Number of Animal, N: Normal, Sign: Clinical sign

Table 2. Incidence of necropsy findings in Sprague-Dawley rats orally treated water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protaetia dreujtarsis* (CMPD)

Findings	No.	A1 (0 mg/kg)		A2 (2,000 mg/kg)		A3 (1,000 mg/kg)		A4 (500 mg/kg)	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
NGF	40	5	5	5	5	5	5	5	5
Finding	0	0	0	0	0	0	0	0	0

No.: Number of Animal, NGF: No Gross Findings

한 굼벡이 유래 밀리타리스 동충 하초 열수추출물(CMPD extract)의 단회경구투여 독성시험 결과, 임상증상관찰 및 사망동물, 체중변화, 육안적 해부조건에 따라 최고농도 2,000 mg/kg body weight 에서 어떠한 이상변화도 나타나지 않아 본 실험에서는 LD₅₀ 값을 2,000 mg/kg body weight 이상으로 산출하였다.

급성 간손상 유발 모델에서 굼벡이 유래 밀리타리스 동충하초(CMPD) 열수추출물의 간보호 효과

혈액생화학적 분석 결과: 일반적으로 혈청 GOT, GPT, LDH (lactate dehydrogenase), ALP(alkaline phosphatase)등 간대사와 관련한 효소를 초기 간손상의 biomarker로 사용하며, 이외 TG, TC, HDL 및 LDL의 변화를 간접적 지표로 사용하고 있다. 특히 glutamic-oxaloacetic transaminase(SGOT)로 알려져 있는 serum aspartate aminotransferase(AST)와 glutamic pyruvic transaminase(SGPT)로 알려져 있는 serum alanineaminotransferase(ALT)가 간세포 손상이나 소멸시에 순환계로 분비되므로, 간손상의 주요지표로 활용된다(1,18,21).

본 실험에서는 시험물질인 굼벡이 유래 밀리타리스 동충하초(CMPD) 열수추출물의 경구투여에 의한 혈청내 GOT, GPT, TG, TC, HDL 및 LDL의 활성변화에 미치는 영향을 확인하였다. SD rat에 olive oil과 혼합한 CCl₄를 복강 내로 주사한 다음, 시험물질은 CCl₄ 투여 전후로 6시간째 각각 2회 투여하였으며, 최종투여 48시간 후에 채혈한 혈청으로부터 간손상 지표를 측정하였다. 먼저 CCl₄ 손상군(G2)과 음성대조군(G1)간의 비교에서 GOT(G2; 3174.2 U/L, G1; 150.7 U/L)와 GPT(G2; 820.3 U/L, G1; 54.3 U/L) 측정치는 각각 통계적으로 유의하게($p < 0.05$) 증가하였음을 확인하였다(Fig. 1A). 반면 손상군(G2)에 비해 시험물질 투여군(G4, G5, G6)의 TC 및 LDL 측정치는 큰 변화를 보이지 않았으며(Table 3), TG 수치에서는 시험물질 투여군(G4, G5, G6)이 손상군(G2)과 비교할 경우 다소 감소하는 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의성을 나타내지 않았다. 또한 HDL수치에서는

시험물질 투여군(G4, G5, G6)이 손상군(G2)에 비해 증가를 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다(Table 3). 결과적으로 본 실험에서 olive oil과 혼합한 CCl₄를 복강내 투여하여 유도된 급성간손상 모델에서는 CCl₄ 투여로 간세포의 손상과 파괴를 유발하였지만, 전반적으로 지질에 대한 합성을, 이용을 및 분비를 이 평형을 이루고 있음을 시사한다. 다음으로 간손상 유발물질(CCl₄) 투여 후 시험 물질(CMPD extract) 또는 양성대조물질(silymarin)을 투여한 동물에서의 간손상 지표를 손상대조군(G2)과 비교하였다. 간손상의 주요 지표인 GOT 측정에서 CCl₄ 손상대조군(G2)의 3174.2 U/L에 비하여 양성대조군(G3)에서는 2689.5 U/L로 다소 낮아진 반면, 시험물질 투여군(G4, G5, G6)에서는 각각 1412.9($p < 0.05$), 1562.4($p < 0.05$), 1782.6 U/L로 농도 의존적이고 통계적 유의성이 있는 감소를 나타내었다. GPT 측정에서도 CCl₄ 손상대조군(G2)의 820.3 U/L에 비하여 양성대조군(G3)은 713.5 U/L로 다소 낮아진 반면, 시험물질투여군(G4, G5, G6)에서는 각각 418.6($p < 0.05$), 489.3, 621.5 U/L로 농도 의존적이고 유의성 있는 감소양상을 보였다(Fig. 1B). 따라서 본 시험에 사용한 굼벡이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)은 양성대조물질인 silymarin 이상의 간보호효과를 보이는 것으로 사료된다. 간의 합성능력 중 지질대사와 관련한 지표인 TG와 TC 측정에서는 모든 실험군에서 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 또한 olive oil과 혼합한 CCl₄를 복강내 투여로 인한 LDL 및 HDL의 변화에 있어서 시험물질 투여군(G4, G5, G6)의 경우 통계적 유의성은 없으나 어느 정도의 회복기미를 보여주었다(Table 3). 일부에서는 CCl₄가 간 microsome의 cytochrome P-450에 의하여 대사되어 반응성이 높은 \cdot CCl₃기가 생성되고 이것이 간세포막에 단백질과 결합하여 세포 기능을 저하시킴으로써 TG와 cholesterol의 함량이 증가된다고(22) 보고하고 있으나, 본 실험에서 유도한 급성간손상은 간세포의 파괴는 일어나지만 간의 전반적인 합성능력은 유지되고 있는 정도로 급성손상에 보다 적합한 모델로 사료된다. 이러한 급성간손상에 대하여 시험물질(CMPD

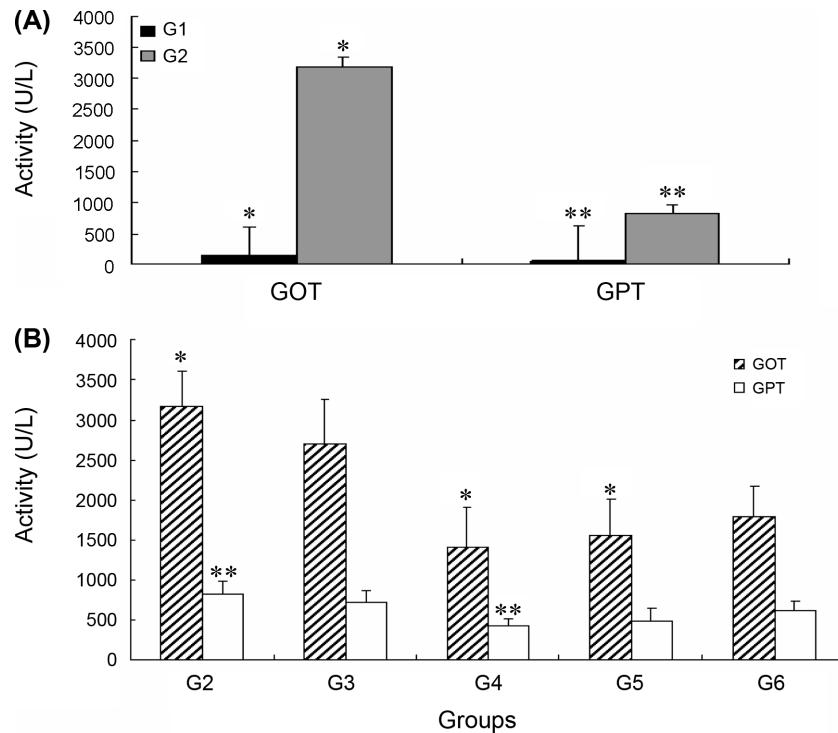


Fig. 1. Effect of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protiaea dreujtarsis* (CMPD) on activities of serum GPT (glutamic-pyruvic transaminase) and GOT (glutamic-oxaloacetic transaminase) in rats treated with CCl₄. The data represent the mean ± SD of 10 rats and show GOT and GPT (A) in Sprague-Dawley rats only treated with CCl₄, (B) by oral administration of CMPD extract in rats treated with CCl₄. G2 animals constituted the hepatotoxic group, which received 20 % CCl₄ suspended (in olive oil 10 mL/kg/bw) (oral) for 48 h. G3 animals received Silymarin (50 mg/kg/bw) (oral) suspended in olive oil before and after 6 h in CCl₄ administration. G4, G5 and G6 animals received CMPD extract (50, 25 and 12.5 mg/kg/bw) suspended in olive oil before and after 6 h in CCl₄ administration. * and ** significantly different from the group treated with CCl₄ alone, $p < 0.05$.

extract)은 분명한 보호효과를 보여 주며, 이는 세포막의 다가불포화 지방산의 과산화(lipid peroxidation)를 억제하여 세포막 파괴를 방지하였거나, 간조직의 재생 및 회복을 촉진시킨것으로 기인한다고 사료 된다.

간 조직의 병리조직학적 결과: 간손상 지표의 변화를 통한 간접적인 결과를 확인하기 위하여 각 실험군의 간 조직에 대한 병리조직학적 관찰을 실시하였다. 간손상 유발물질(CCl₄) 투여 및 시험 물질(CMPD extract) 투여 48시간 후 절취한 간에서 간소엽 사이 결합조직(Glission's capsule)중 소엽사이 동맥, 소엽사이 정맥, 소엽사이 담관 즉 소엽사이 간삼조(hepatic triad)부분이 보이게 간조직을 절편한 다음, H&E 염색을 통해 간조직을 관찰

하였다. 음성대조군(G1)에서는 정상세포로서 핵이 뚜렷이 보이며 그 간격이 일정하고, 세포간극이 좁은 잘 짜인 소엽구조를 관찰할 수 있었다(Fig. 2A). 반면 손상군(G2)의 간조직에서는 구멍이 난 것처럼 세포의 지방산의 탈락으로 인한 공포가 생기고 간세포가 괴사된 모습을 볼 수 있다(Fig. 2B). 고용량의 곰벵이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)(50 mg/kg body weight)을 투여한 시험물질 투여군(G4)과 silymarin을 투여한 양성대조군(G3)에서는 CCl₄에 의해 일부 간손상이 일어나 세포의 파괴와 넓어진 세포간극을 보이고 있으나, 손상정도가 CCl₄ 투여군(G2)에 비해 확연히 감소하였음을 관찰할 수 있다(Fig. 2C, 2D).

Table 3. Effect of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protiaea dreujtarsis* (CMPD) on activities of serum triglyceride (TG), total cholesterol (TC), high density lipoprotein (HDL) and low density lipoprotein (LDL) in rat treated with CCl₄

Group	CMPD dose (mg/kg)	No.	Activity (mg/dL) (Mean ± S.D.)				
			TG	TC	HDL	LDL	
Vehicle	G1	0	10	142.56 ± 31.05	64.6 ± 2.7	20.2 ± 2.4	7.0 ± 1.0
CCl ₄	G2	0	10	167.9 ± 78.5	67.9 ± 15.3	9.8 ± 5.2	21.4 ± 6.4
Silymarin	G3	25	10	159.8 ± 60.0	65.0 ± 13.4	7.0 ± 2.8	21.1 ± 5.4
	G4	50	10	115.7 ± 35.5	62.9 ± 10.7	15.1 ± 2.1	18.6 ± 5.8
CMPD	G5	25	10	118.8 ± 47.0	60.8 ± 10.7	13.6 ± 2.2	19.8 ± 5.6
	G6	12.5	10	123.3 ± 26.5	58.8 ± 11.6	12.6 ± 4.1	21.1 ± 5.3

No.: Number of Animal

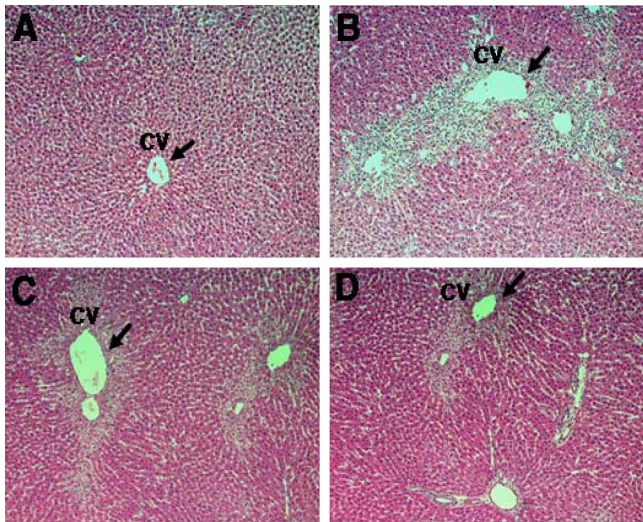


Fig. 2. Effect of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protactia dreujtarsis* (CMPD) on CCl_4 -induced liver damage of Sprague-Dawley rats. (A) control group, (B) animals treated with 20% CCl_4 (2 mL/kg/bw), (C) pretreated and treated animals with silymarin and then treated with 20% CCl_4 (2 mL/kg/bw), (D) pretreated and treated animals with CMPD extract and then 20% CCl_4 (2 mL/kg/bw). Specimens were stained with hematoxylin and eosin. Magnification 100 \times .

요 약

곰팡이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)의 안전성 자료를 확보하기 위하여 단회경구투여 독성시험을 실시하였으며, CCl_4 의 경구투여로 유도된 간손상 실험동물모델로부터 시험물질(CMPD extract)의 간보호효과를 확인하였다. 단회경구투여 독성시험결과, 시험물질(CMPD extract)의 최고농도(2,000 mg/kg body weight)에서 독성을 나타내지 않아 LD_{50} 값을 그 이상으로 결정하였다. 또한 독성물질(CCl_4)로부터 간손상이 유발된 SD rat에 시험물질(CMPD extract)을 투여한 후 혈청으로부터 간손상과 관련한 지표물질인 GOT, GPT, TG, TC, LDL 및 HDL 활성도를 측정하였으며, 이와 함께 병리조직학적 소견을 확인하였다. 혈청 GOT는 손상군(G2)에 비해 G4, G5 시험물질투여군에서 유의한 감소를 나타내었으며, GPT의 경우 고용량 시험물질 투여군(G4)에서 유의한 감소를 나타내었다($p < 0.05$). 또한 LDL 및 HDL 활성도는 손상군(G2)에 비해 유의하지는 않지만 시험 물질 투여군(G4, G5, G6)에서 어느 정도 회복기미를 보였다. 병리조직학적 소견에서도 손상군(G2)의 경우 심각한 세포독성을 보였으나, 시험물질 고용량 투여군(G4)에서는 손상된 세포가 감소하였음을 확인하였다. 이상의 결과들은 곰팡이 유래 밀리타리스 동충하초 열수추출물(CMPD extract)이 CCl_4 투여에 의해 유발된 급성간 손상에 대하여 간조직의 보호와 간세포의 기능유지에 유효한 물질임을 제시 하고 있다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국 학술진흥재단의 지원(KRF-2005-003-04-001)을 받아 연구된 것으로 이에 감사 드립니다.

문 헌

- Lieber CS. Alcohol and the liver. *Gastroenterology* 106: 1085-1105 (1994)
- Lee KW, Nam BH, Jo WS, Oh SJ, Kang EY, Choi YJ, Lee JY, Cheon SC, Jeong MH, Lee JD. Collection, classification, and hepatic effect of native *Cordyceps militaris*. *Korean J. Mycol.* 34: 7-13 (2006)
- Brown BR, Sipes I, Sagalyn G, Ann M. Mechanisms of acute hepatic toxicity. *Anesthesiology* 41: 554-561 (1974)
- Goodman GA. Carbon Tetrachloride in the *Pharmacological Basis of Therapeutics*. Macmillan Publishing Co., New York, NY, USA. pp. 1635-1636 (1985)
- Ilett KF, Reid WD, Sipes IG, Krishna G. Chloroform toxicity in mice: Correlation renal and hepatic necrosis with covalent binding of metabolites to tissue macromolecules. *Exp. Mol. Pathol.* 19: 205-215 (1973)
- Shim JY, Lee YS, Lim SS, Shin KH, Hyun JE, Kim SY, Lee EB. Pharmacological activities of *Paecilomyces japonica*, a new type *Cordyceps* sp. *Korean J. Pharmacogn.* 31: 163-167 (2000)
- Rechnagel RO. Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 19: 145-208 (1967)
- Rechnagel RO, Glende EA. Carbon tetrachloride hepatotoxicity: An example of lethal cleavage. *Crit. Rev. Toxicol.* 2: 263-297 (1973)
- Villarruel MC, Diaz Gomez MI, Castro JA. The nature of the *in vitro* irreversible binding of carbon tetrachloride to microsomal lipids. *Toxicol. Appl. Pharm.* 33: 106-114 (1975)
- Glende EA, Pushpendran CK. Activation of phospholipase A2 by carbon tetrachloride in isolated rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* 35: 3301-3307 (1986)
- Long RM, Moore L. Inhibition of liver endoplasmic reticulum calcium pump by CCl_4 and release of a sequestered calcium pool. *Biochem. Pharmacol.* 35: 4131-4137 (1986)
- Plaa GL, Hewitt WR. *Toxicology of the Liver*. Raven Press, New York, NY, USA. pp. 103-120 (1982)
- Rechnagel RO. A new direction in the study of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Life Sci.* 33: 401-408 (1983)
- Hassan HM. Biosynthesis and regulation of superoxide dismutases. *Free Radical Bio. Med.* 5: 377-385 (1988)
- Byers T, Perry G. Dietary carotenes, vitamin C, and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. *Ann. Rev. Nutr.* 12: 135-159 (1992)
- Nevin KG, Vijayammal PL. Effect of *Aerva lanata* against hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. *Environ. Toxicol. Phar.* 20: 471-477 (2005)
- Poli G, Gravela E, Albano E, Dianzani MU. Studies on fatty liver with isolated hepatocytes: The action of carbon tetrachloride on lipid peroxidation, protein and triglyceride synthesis and secretion. *Exp. Mol. Pathol.* 30: 116-127 (1979)
- Seakins A, Robinson DS. The effect of the administration of carbon tetrachloride on the formation of plasma lipoproteins in the rat. *Biochemistry* 86: 401-407 (1963)
- Kim MN, Oh SW, Lee DS, Ham, SS. Antioxidative and antimutagenic effect of the ethanol extract from *Cordyceps militaris*. *Korean J. Postharv. Sci. Technol.* 8: 109-117 (2001)
- Koh JB, Choi MA. Effect of *Cordyceps militaris* on lipid metabolism in rats fed cholesterol diet. *J. Food Sci. Nutr.* 34: 265-270 (2001)
- Plaa GL. Toxic response of the liver. pp. 334-353. In: Casarett and Doull's *Toxicology*. Amdur MO, Doull J, Klassen CD (eds). Pergamon Press, New York, NY, USA. (1991)
- Hayes AW. *Principles and Methods of Toxicology*. Raven Press, New York, NY, USA. pp. 407-413 (1982)
- Teocharis SE, Margelo AP, Skaltsas SD, Spiliopoulou CA, Koutselini AS. Induction of metallothionein in the liver of carbon tetrachloride intoxicated rats: An immuno histochemical study. *Toxicology* 161: 129-138 (2001)