급성 간독성에 대한 一中補肝湯의 해독 효과에 관한 연구

손기정* · 김준명 · 박양춘

일중한의원, 대전대학교 한의과대학 폐계내과학교실

Protective Effects of Iljungbogan-Tang on Acute Hepatotoxicity Induced by CCL_4 and Acetaminophen

Gi Jung Son*, Joon Myoung Kim, Yang Chun Park

Il Jung Oriental medicine clinic, Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

This study was done to investigate the protective effects of Iljungbogan-Tang on acute hepatotoxicity of rats induced by CCL_4 and acetaminophen. The subject animals were divided into 3 groups : control group(administrated 0.5% carboxymethyl cellulose), sample group(30, 100, 300, 600mg/kg administrated), positive control group (administrated silymarine), Acute hepatotoxicity of rats were induced by CCL_4 and acetaminophen, and the serum transaminase(AST, ALT) were measured for enzyme activities. The inhibitory effects on the serum AST activities were noted in sample group(100, 300, 600mg/kg administrated) on hepatotoxicity of rats induced by CCL_4. The inhibitory effects on the serum AST, ALT activities were noted in sample group(30mg/kg administrated) on hepatotoxicity of rats induced by acetaminophen. The inhibitory effects on the serum AST activities were noted in sample group(600mg/kg single dose administrated) on hepatotoxicity of rats induced by acetaminophen. It is considered that Iljungbogan-Tang has protective effects against hepatotoxicity in rats induced by CCL_4 and acetaminophen. So it is required to study about the actions of mutual relation of medicines and patho-mechanism through experiment.

Key words : Iljungbogan-Tang, hepatotoxicity, CCL_4, acetaminophen

서 론

2000년도 통계청 자료에 의하면 우리나라의 간암에 의한 사망자는 10만 명 당 23.7 명으로 세계 1위이고, 간경화 등 만성 간질환에 의한 사망자는 세계 3위인 28.8 명으로 다른 나라에 비해 유독 높게 나타나고 있다. 또한 연령별 사인 순위에서도 각종 암으로 인한 사망을 제외하고는 30~50 대에서 간질환이 사망 원인의 1~3위를 차지하고 있는 것으로 나타났다[1].이처럼 간질환으로 인해 많은 환자들과 가족들이 육체적, 정신적인 고통을 받고 있으며 장기간에 걸친 치료로 인해 금전적으로도 심한 압박을 받고 있는 것이 현실이다. 또한 사회 전반에서 가장 왕성한 활동을 하고 있는 30~50 대의 많은 사람들이 간질환으로 인해 사망한다는 것은 국가적으로도 심각한 손실이 아닐 수 없다. 특히 최근에는 바이러스 감염 이외에도 고지방, 고영양식 위주의 식생활, 과도한 음주, 과로, 약물의 남용 및 오용 등으로 인해 간질환에 노출되는 환자들이 더욱 늘어나는 추세로 이는 매우 심각한 사회적 문제이다[2-4].

간질환은 지방간에서부터 만성간염, 간경변증, 간암까지 종류와 심한 정도가 다양하다. 증상 역시 무증상에서부터, 피로감, 쇠약감, 식욕부진, 구토, 체중감소, 복통, 황달, 복수, 혼수 등까지 다양하게 나타나는데 한의학에서는 黃疸, 肝熱, 勞倦傷, 酒傷, 脇痛, 積聚, 鼓脹 등의 증후들이 간질환의 범주에 속한다[5,6].

간질환은 바이러스, 알콜 및 독성물질, 약물 등을 위시한 다양한 인체 내외적 요인에 의해 발병하며 간염과 간경변을 포함하는 다양한 병증으로 표출되는데, 지금까지 각종 간질환에 대한 한약물의 연구가 지속적으로 발표되고 있으나 아직까지도 치료약재의 개발은 미흡한 상태이다. 이에 본 연구에서는 사염화탄소(CCL_4), 아세트아미노펜 등의 간독성 유발물질로 인해 유발된 급성 간독성에 대한 一中補肝湯(약칭 IJBGT)의 해독효과를, 간세포 파괴 시 혈중으로 유리되는 대표적 효소인 AST 및 ALT의 활성을 측정함으로써 검증하고자 하였다.

* 교신저자 : 손기정, 서울시 서초구 서초 2동 1339-7 청화빌딩 일중한의원

· E-mail : doctor@iljung.co.kr, · Tel : 02-585-3620

· 접수 : 2005/10/27 · 수정 : 2006/03/02 · 채택 : 2006/04/03

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 약재는 시중 건재약국에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였으며 실험에 사용된 一中補肝湯의 처방 내용 및 한 첩 분량은 茵蔯 12g, 澤瀉 10g, 白朮 5g, 厚朴 5g, 山査 5g, 鬱金 4g, 陳皮 4g, 砂仁 4g, 金錢草 5g, 三白草 5g, 枳椇子 8g 이다.

2. 실험동물

체중 200g 내외의 SD계 웅성 흰쥐와 체중 20-25 g 의 ICR계 생쥐를 실험동물 전문 사육업체로부터 공급받아, 동물이 생육하기에 적절한 온도, 상대습도, 조도가 유지되며, 12시간 간격으로 명암이 조절되는 동물 사육실에서 일주일 이상 순화시킨 후 외관상 건강한 동물만을 실험에 사용하였다. 동물용 고형 사료 및 음용수는 자유롭게 섭취시켰다.

3. 시험물질의 조성, 조제 및 투여

一中補肝湯 한 첩 분량에 800-1,000ml의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 80ml의 탕액을 수거하였다. 이와 같은 방식으로 20첩(한 재) 분량을 동시에 추출한 후 각 탕액을 실온 정도로 방냉한 후 여과하고, 동결 건조기를 이용하여 감압 동결건조하여 고형물 상태의 추출물을 얻고, 이를 분쇄하여 시험물질로 사용하였다. 이상의 과정에서 얻어진, 동결건조 된 시험물질을 조제 용매(0.5% carboxymethyl cellulose, 이하 CMC)에 현탁시켜 경구투여 바늘을 사용하여 경구로 강제 투여하였다. 각각의 투여용량은 투여 직전 계측된 각 실험동물의 체중에 따라 산출하였고, 대조군, 사염화탄소 및 acetaminophen 단독 투여군은 조제 용매(CMC)만을 투여하였다.

4. 사염화탄소(CCL_4)로 유발된 급성 간독성 모델 제작 및 시험물질 투여

SD계 웅성 흰쥐에 CCL4(Wako Co., Japan) : olive oil(Sigma, U.S.A.) 혼합액(1 : 9, v/v)을, 흰쥐 체중 100 g 당 0.2 ml씩 복강 내 투여하고 24시간 후 ether 마취 하에 개복하여 복부 대동맥에서 채혈하였다. 이로부터 혈청을 분리하여 aspartate aminotransferase (AST, GOT)와 alanine aminotransferase (ALT, GPT) 활성을 측정용 kit (Sigma, U.S.A.)을 사용하여 측정하였다. 시험물질은 CCL_4 투여 14일 전부터 1일 1회씩 동일한 시각에 경구 투여하였고, CCL_4 투여 당일에는 시험물질을 CCL_4 투여 전 4시간 및 투여 후 6시간에 경구 투여하였다. 양성 대조약물로는 silymarin을 사용하였다.

5. 아세트아미노펜(acetaminophen)으로 유발된 급성 간독성 모델 제작 및 시험물질 투여

ICR계 웅성 생쥐에 acetaminophen(15 mg/ml, warm saline에 용해) 300 mg/kg을 복강 내 투여하고 24시간 경과 후, 두부를 절단, 혈액을 채취한 후 혈청 내 AST와 ALT의 활성을 측정용 kit (Sigma, U.S.A.)을 사용하여 측정하였다. 시험물질은 acetaminophen 투여 14일 전부터 1일 1회 동일한 시각에 경구 투여하였고, acetaminophen 투여 당일에는 시험물질을 acetaminophen 투여 전 4시간 및 투여 후 6시간에 경구 투여하였다. 양성 대조약물로는 silymarin을 사용하였다.

6. 통계 처리

본 시험에서 얻어진 결과는 mean ± S.E.M.으로 나타내었으며 이에 대한 통계학적인 분석은 one-way ANOVA를 시행하여 p=0.05의 수준에서 유의성이 인정되는 경우 Dunnett's test로 시험군 간의 차이를 비교하였다.

실험결과

1. 사염화탄소(CCL_4) 유발 간독성에 대한 一中補肝湯 2주 연속 투여의 해독효과

대조군의 AST치는 96 ± 11 U/L로 낮은 수치를 나타내었으며, 이는 CCL4 투여에 의해 1417 ± 82 U/L로 현저히 상승하였다. 그러나, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 100, 300 및 600 mg/kg 투여군에서는 각각 1087 ± 86 U/L, 1075 ± 67 U/L, 1042 ± 54 U/L 의 측정치를 보여, 대조군에 비해 AST치가 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 해독효과를 보여주었다 (silymarin 투여군에서는 708 ± 62 U/L) (Fig. 1).

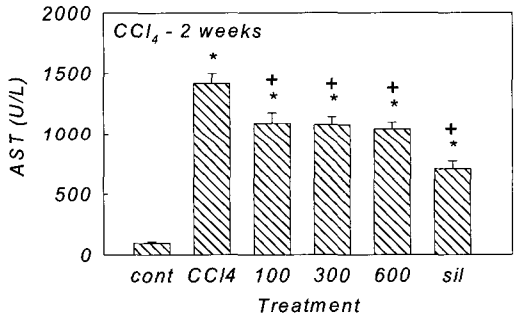

Fig. 1. Effect of IJBGT on AST activity in CCL_4-induced hepatotoxicity. ** Significantly different (p<0.01) from control group. ++ Significantly different (p<0.01) from CCL_4 group. + Significantly different (p<0.05) from CCL_4 group. Cont, Control; Sily, Silymarin.

2. 아세트아미노펜 유발 간독성에 대한 一中補肝湯 2주 연속 투여의 해독효과

대조군의 ALT 및 AST치는 각각 20 ± 5 U/L와 266 ± 181 U/L로 낮은 수치를 나타내었다. 이는 acetaminophen 투여에 의해 각각 6745 ± 400 U/L와 6117 ± 360 U/L로 현저히 상승하였다. 그러나, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 30 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비해 ALT 및 AST치가 각각 1687 ± 670 U/L, 887 ± 350 U/L 의 측정치를 보여, 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 해독효과를 보여주었다(silymarin 투여군에서는 각각 627 ± 426 U/L, 1768 ± 1170 U/L) (Fig. 2, 3).

3. 아세트아미노펜 유발 간독성에 대한 一中補肝湯 단회 투여의 해독효과

대조군의 AST치는 213 ± 16 U/L로 낮은 수치를 나타내었

으나, 아세트아미노펜 투여에 의해 5666 ± 466 U/L로 현저히 증가하였다. 그러나, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 600 mg/kg 투여군에서는 2606 ± 906 U/L의 측정치를 보여, 대조군에 비해 AST치가 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 해독효과를 보여주었다(silymarin 투여군에서는 3098 ± 885 U/L) (Fig. 4).

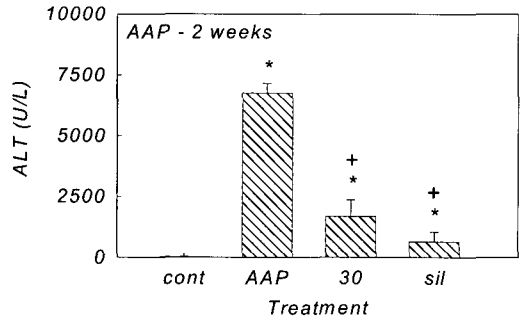

Fig. 2. Effect of IJBGT on ALT activity in acetaminophen-induced hepatotoxicity. * Significantly different ($p<0.05$) from control group. + Significantly different ($p<0.05$) from AAP group. (cont, Control; sil, Silymarin; AAP; Acetaminophen)

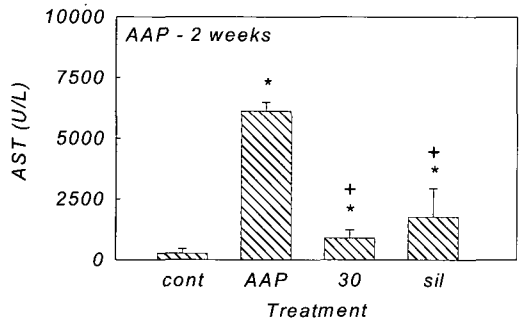

Fig. 3. Effect of IJBGT on AST activity in acetaminophen-induced hepatotoxicity. * Significantly different ($p<0.05$) from control group. + Significantly different ($p<0.05$) from AAP group. (cont, Control; sil, Silymarin; AAP; Acetaminophen)

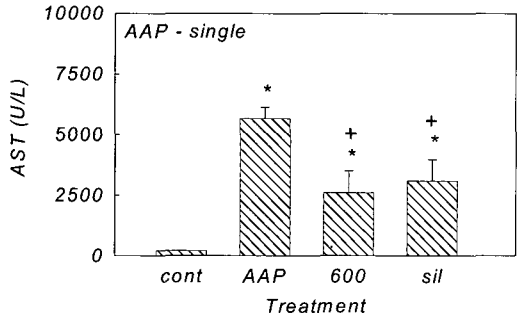

Fig. 4. Effect of IJBGT on AST activity in acetaminophen-induced hepatotoxicity. * Significantly different ($p<0.05$) from control group. + Significantly different ($p<0.05$) from AAP group. (cont, Control; sil, Silymarin; AAP; Acetaminophen)

고 찰

간은 평균 성인에서 총 체중의 1/50을 차지하는 약 1.5Kg 정도의 인체에서 가장 큰 기관으로 혈액의 여과 및 저장, 각종 물질의 대사, 담즙의 형성, 비타민 및 철의 저장, 혈액응고인자 형성 등 다양한 기능을 담당하며 특히 인체에 유해한 이물질에 대한 해독작용을 담당한다. 이처럼 다양한 역할을 담당하고 있어 간은 인체의 화학 공장이라고도 불리 운다[7]. 한의학에서는 이러한 간의 생리기능을 主疏泄, 主藏血이라고 하는데 간질환의 증상들은 이러한 기능들의 太過 또는 不足으로 인한 肝氣鬱結, 肝陽上亢, 肝火熾盛, 肝風內動, 寒滯肝脈, 肝陰血不足 등의 병리상태로 인해 나타나게 되며, 黃疸, 肝熱, 勞倦傷, 酒傷, 脇痛, 積聚, 鼓脹 등이 관련된 질환군에 속한다[5]. 치료법은 淸熱利濕, 疏肝利氣, 調理脾胃, 活血化瘀, 養血滋陰, 解毒 등이며 대표적인 처방으로는 小柴胡湯, 茵蔯五苓散, 柴胡抑肝湯, 生肝建脾湯 등이 있다[8,9].

본 실험에 사용된 一中補肝湯은 茵蔯 12g, 澤瀉 10g, 白朮 5g, 厚朴 5g, 山査 5g, 鬱金 4g, 陳皮 4g, 砂仁 4g, 金錢草 5g, 三白草 5g, 枳椇子 8g 으로 구성되어 있는데 茵蔯, 澤瀉, 金錢草, 三白草, 枳椇子 등은 淸熱利濕, 退疸하는 작용을 하고[10,11], 鬱金은 行氣, 利膽退疸하며 白朮, 厚朴, 山査, 陳皮, 砂仁은 理氣, 健脾和胃하는 효능이 있어 임상에서 간담계 질환에 대한 치료 효과를 나타내고 있다[10].

이에 간세포 파괴 시 혈중으로 유리되는 대표적 효소인 AST 및 ALT의 활성을 측정함으로써 급성 간독성에 대한 一中補肝湯(약칭 IJBGT)의 해독효과를 검증해보았다. 실험적인 간손상 및 간섬유화 유발에 일반적으로 많이 사용되는 CCl_4는 간독성을 유발하는 것으로 알려진 유기용매로, methylchloroform과 trichloroethylene 같은, 독성이 낮은 새로운 용매의 등장에 따라 사용빈도가 감소되어 왔다[12]. 정확한 독성 유발기전은 알려져 있지 않으나, 분자 구조 중에 탄소와 염소의 결합이 분열되면서 생성되는 trichloromethyl과 monoatomic chlorine free radical 등이 지질(lipid)의 과산화를 야기함으로써 간세포 괴사를 일으키며[13,14], trichloromethyl radical은 단백질과 공유결합 산물을 만들어 O_2와 반응, trichloromethyl peroxy radicals를 생성하거나 chloroform을 생성하는 것으로 알려져 있다[14]. CCl_4에 의해 유발되는 조직 내 과산화지질 생성은 지방산 조성에 변화를 유발하며[15,16], 조직학적 병변으로는 지질 과산화로 인해 생성되는 free radical에 의한 중간부(midzonal)와 중심 정맥부위(centrilobular regions)에 집중된 괴사와 Kupffer cell의 증가 및 염증세포 침윤 등이 관찰된다고 한다[17,18]. 성인을 기준으로 할 때, 경구 투여나 흡입 투여 시 5 - 10㎖의 소량 노출 시에도 죽음에 이를 수 있는 것으로 보고되어 있다[19].

이렇듯, 강한 간독성을 유발하는 사염화탄소를 이용하여 제작된 급성 간독성 모델에서, 대조군의 AST치는 96 ± 11 U/L로 낮은 수치를 나타내었으며, 이는 CCl_4 투여에 의해 1417 ± 82 U/L로 현저히 상승하였다. 그러나, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 100, 300 및 600 mg/kg을 1일 1회씩 2주간 연속으로 투여한 군에서는 각각 1087 ± 86 U/L, 1075 ± 67 U/L, 1042 ± 54 U/L 의 측정치를 보여, 대조군에 비해 AST치가 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 해독효과를 확인할 수 있었다(Fig. 1).

아세트아미노펜은 진통, 해열작용은 있으나, 항염증, 항류마티스 작용은 나타내지 않는 해열 진통약물로서, Reye's 증후군의 발생 위험이 있는 환자, 통풍치료를 위해 요산배설 촉진약물을 복용하는 환자, 항혈액응고제를 사용하고 있는 환자, 위궤양 또

는 출혈 경향이 있는 환자, 기타 아스피린에 과민한 반응을 보이는 환자들에게 나타나는 경증-중등도의 통증을 조절하기 위해 아스피린 대신 사용하는 약물이다.이 약물은 경구 투여 시 신속 흡수되어, 간 microsome 효소에 의해 대사, sulfate나 glucuronide 포합체로 전환, 불활성화 되는데, 과량 복용 시, 약물 자체 또는 그 대사체에 대한 sulfate나 glucuronide 포합 효소가 포화되고, 대체경로로서 glutathione 포합 경로의 중요성이 증대되는 것으로 알려져 있다. 그러나, 간 glutathione마저 고갈된다면, 약물 자체 및 독성 대사체인 N-acetyl-p-benzoquinone이 축적되어, DNA나 RNA등의 간세포 내 중요분자들과 상호작용을 일으켜 세포 괴사 등 간 손상을 유발한다[20]. 실험결과에서 볼 수 있듯이, 대조군의 ALT 및 AST치는 각각 20 ± 5 U/L와 266 ± 181 U/L로 낮은 수치를 나타내었다. 이는 acetaminophen 투여에 의해 각각 6745 ± 400 U/L와 6117 ± 360 U/L로 현저히 상승하였는데, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 30 mg/kg을 1일 1회씩 2주간 연속으로 투여 시 대조군에 비해 ALT 및 AST치가 각각 1687 ± 670 U/L, 887 ± 350 U/L 의 측정치를 보여, ALT 및 AST치가 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 一中補肝湯의 해독효과를 확인할 수 있었다 (Fig. 2, 3).

아세트아미노펜으로 유발된 간독성 모델에 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 600 mg/kg을 단회 투여한 실험에서, 대조군의 AST치는 213 ± 16 U/L로 낮은 수치를 나타내었으나, 아세트아미노펜 투여에 의해 5666 ± 466 U/L로 현저히 증가하였다. 그러나, 시험물질인 一中補肝湯 최종 추출물 600 mg/kg 투여군에서는 2606 ± 906 U/L의 측정치를 보여, 대조군에 비해 AST치가 유의성 있게 감소함으로써, 급성 간독성에 대한 해독효과를 보여주었다(Fig. 4).

결론적으로, 一中補肝湯은 인체를 대상으로 한 오랜 기간의 투여 결과와 일맥상통하게, 실험동물에서도 간독성을 해독함으로써 간기능을 정상화시키고, 나아가 간을 보호하는 효능을 보유하고 있는 것으로 사료되며, 향후 임상 및 실험실에서 약물 상호간의 기전 및 작용에 대한 연구와 활용이 요구된다.

결 론

사염화탄소(CCL_4), 아세트아미노펜 등의 간독성 유발물질로 인해 유발된 급성 간독성에 대한 一中補肝湯(약칭 IJBGT)의 해독효과를 규명하기 위해, 간세포 파괴 시 혈중으로 유리되는 대표적 효소인 AST 및 ALT의 활성을 측정해본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 사염화탄소(CCL_4) 유발 간독성에 대한 실험 결과 一中補肝湯을 2주간 투여한 군에서 AST의 활성이 유의성 있게 감소하였다. 아세트아미노펜 유발 간독성에 대한 실험 결과 一中補肝湯을 2주간 투여한 군에서 AST, ALT의 활성이 유의성 있게 감소하였다. 아세트아미노펜 유발 간독성에 대한 실험결과 一中補肝湯을 단회 투여한 군에서 AST의 활성이 유의성 있게 감소하였다.

참고문헌

1. 통계청. 2000년도 사망원인통계결과. 서울, 통계청. 2001.
2. 전국한의과대학 간계내과교수저. 간계내과학. 서울, 동양의학연구원. pp 24-29, 230-231, 1995.
3. 고려의학편집부. 소화기 질환. 서울:고려의학. 1989:144-192.
4. 서광의학서림편집부. 간장병의 진단학. 광주, 서광의학서림. pp 115-117, 375-376, 439-447, 1991.
5. 김완희, 최달영. 장부변증논치. 서울, 성보사. pp 70-74, 87, 105-109, 139-140, 150-165, 1982.
6. 이태훈, 강재춘, 김병우. 흰쥐의 간손상에 대한 가감인작도화탕의 간 보호효과. 대한한방내과학회지 24(1):44-54, 2003.
7. 의학계열교수 27인 공역. 의학생리학. 서울: 도서출판정담. 2002:928-30.
8. 김정제, 김병운. 동의진료요감. 서울, 동양의학연구원 pp 24-29, 230-231, 1983.
9. 최은주, 강재춘. 舟車丸이 CCL_4 및 d-galactosamine으로 유발된 흰쥐의 肝損傷에 미치는 영향. 대한한방내과학회 24(1):55-67, 2003.
10. 전국한의과대학 본초학교실. 본초학. 서울, 영림사. pp 291, 294, 305, 327-329, 347, 369, 414, 417, 536, 1991.
11. 신동훈, 조명래. 지구자에 대한 문헌고찰 및 최근 연구동향. 대한본초학회지 17(1):81-91, 2002.
12. Mathnew, J.E., Donald, G.B. Medical Toxicology, Diagnosis and Treatment of Human Poisoning. Elsevier. pp 969-972, 1963.
13. Gordis, E. Lipid metabolites of carbon tetrachloride. J. Clin. Invest. 48, 203-209, 1969.
14. Pohl, L., Schulick, R., Highet, R., George, J. Identification of dichloromethyl carbene as a metabolite of carbon tetrachloride. Biochem. Biophys. Res. Commun. 117, 367-372, 1983.
15. Noll, T., Groot, H. The critical steady-state hypoxic conditions in carbon tetracholoride-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. Biochem. Biophys. Acta. 795, 356-362, 1984.
16. Geerts, A., Schelhnck, P., Bouwens, L., Wisse, E. Cell population kinetics of kupffer cells during the onset of fibrosis in rat liver by chronic carbon tetrachloride administration. J. Hepatol. 6, 50, 1988.
17. Hoyumpa, A.M. Jr., Green, H.L., Dunn, G.D., Schenker, S. Fatty liver.: Biochemical and clinical considerations. Am. J. Dig. Dis. 20, 1142-1163, 1975.
18. Lombardi, B. Considerations on the pathogenesis of fatty liver. Lab. Investe. 15, 1, 1966.
19. Stewart, R.D., Boettner, E.A., Southworth, R.R., et al. Acute carbon tetrachloride intoxication. JAMA. 183, 994-997, 1963.
20. Mitchell, J.R., Jollow, D.J., Gillette, J.R., Brodie, B.B. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. IV. Protective role of glutathione. J. Pharmacol. Exp. Ther. 187, 211-217, 1973.