

한약 복합추출물 HCE-2가 알코올을 투여한 쥐의 알코올 대사 및 간기능에 미치는 영향

한동오 · 박수진¹ · 서봉준 · 이혜정 · 김성훈² · 함대현*

경희대학교 침구경락과학연구소, 1: 경희대학교 동서의학대학원 동서의학과, 2: 경희대학교 한의과대학 병리학교실

Protective Effect of the Herbal Combination HCE-2 on Alcohol Metabolism and Alcohol-induced Liver Injury in Ethanol-loaded Rats

Dong Oh Han, Soo Jin Park¹, Bong Jun Sur, Hye Jung Lee, Sung Hoon Kim², Dae Hyun Hahm*

Acupuncture & Meridian Science Research Center, 1: The Graduate School of East-West Medical School, 2: Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

This study was performed to investigate the medicinal effects of the herbal combination extracts-2 (HCE-2), consisting of *Artemisia capillaris* Thunb., *Lonicera japonica* Thunb., *Prunella vulgaris* var. lilacina, and *Hovenia dulcis* Thunb. on the alcohol-induced liver injury in rats. The rats were randomly divided into four groups: normal group (n =6), non-treated control group (n =6), saline-treated group (n =6) and the herbal combination extract (HCE-2)-treated group (n =6). The rats in the alcohol-loaded groups were orally administered with ethanol at a daily dose of 4 g/kg-body weight for 5 weeks. Thirty minutes before the ethanol injection, saline or herbal combination extracts was administered by using a gastrogavage. Blood and liver tissue samples were taken out from the hearts and livers of the rats, respectively, on 15th and 38th days. The activities of serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). We also investigated the protective effect of the herbal combination extracts by Hematoxylin-Eosin staining on histological sections of rat liver. In this study, the oral administration of the herbal combination extracts significantly reduced the serum levels of AST and ALT, which had been raised by alcohol-induced liver injury. Histological analysis and apparent observation of liver also showed the preventive effect of the herbal combination extracts in a chronic alcohol-induced rat model. These results revealed that the herbal combination extracts effectively prevented hepatic damage consequent to the chronic exposure to repetitive administration of ethanol and could be used as a primary resource of a health beverage or herbal medicine, alleviating the alcohol-induced hepatic injury and hangover symptoms.

Key words : herbal combination, alcohol, liver, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), rat

서론

술에 함유된 에탄올은 위장관계에서 흡수된 후에 거의 대부분 간에서 대사된다. 에탄올은 간에서 alcohol dehydrogenase (ADH) pathway, microsomal ethanol-oxidizing system (MEOS), catalase pathway 등에 의해서 대사가 일어난다¹⁾.

흡수된 에탄올의 80~90%는 간에서 ADH에 의해 acetaldehyde로 산화되고 acetaldehyde는 aldehyde dehydrogenase (ALDH)에 의해 acetate로 산화된다^{2,3)}. 그리고 나머지 10~20% 정도는 MEOS에 의해 대사되는데, 알코올을 만성으로 또는 소량을 장기간 섭취하면 1/2 ~ 2/3 이상이 MEOS에 의해 대사되어 acetaldehyde가 생성되고 acetaldehyde는 xanthine oxidase 등의 효소에 의해 분해된다⁴⁾. 알코올은 거의 대부분 간에서 대사되므로 음주는 체내의 다른 장기에 비하여 간에 큰 영향을 미친다. 알코올이 산화되어 만들어지는 acetaldehyde는 알코올에 비해 반응성이 높고 독성이 강하여 알코올성 간 상해의 원인물질로 작용한다^{5,6)}. acetaldehyde에

* 교신저자: 함대현, 서울시 동대문구 회기동 경희대학교 침구경락과학연구소
· E-mail : dhhahm@khu.ac.kr, · Tel : 031-201-2176
· 접수 : 2007/10/02 · 채택 : 2007/10/12

의한 독성으로는 미토콘드리아의 기능저해로 인한 간염 및 간경변증, ALDH의 활성도 감소, 비타민의 활성억제, 심장 및 근육단백질 합성 억제 등이 보고 되어있다⁷⁾. acetaldehyde는 간세포의 microsomal에 있는 cysteine이나 glutathione과 같은 황화합물과 강하게 결합하여 간 손상을 일으킨다⁸⁾.

간은 알코올 대사에 중요한 기관이지만 알코올을 처리하는 간의 능력에는 한계가 있기 때문에 지나친 알코올 섭취는 대사 장애를 초래하게 된다⁹⁾. 알코올을 장기간 섭취하게 되면 세포내 NADH/NAD⁺의 비율이 증가하여 탄수화물, 단백질 및 지질대사의 장애가 일어난다. 특히 간에서의 지방대사 장애로 인하여 지방산의 합성이 증가되고 산화가 억제되어 지방간이 유발되고 알코올성 간염이나 간경화증이 발생할 수 있다¹⁰⁾.

그리고 알코올을 장기간 섭취하면 MEOS의 활성이 강화되고 MEOS에 의한 에탄올의 산화가 증가되어 superoxide, hydroxyl radical 등 oxygen radical이 정상적인 조건에서 보다 4~8배 이상 많이 생성된다. oxygen radical은 세포막에 다량 함유되어 있는 철, 구리, 망간 등의 금속이온과 함께 세포막의 인지질에 함유되어 있는 불포화지방산과 결합하여 지질과산화물을 생성한다^{4,10)}. 지질과산화는 산화적 세포손상을 촉진시키고 간 손상을 유발하며 간세포의 세포사멸을 증가시킨다^{11,12)}. 간 손상이 일어나면 혈중 aspartate aminotransferase (AST, 또는 SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase)라고도 불림)와 alanine aminotransferase (ALT, 또는 SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase)라고도 불림)의 활성이 높아지게 된다^{13,14)}.

본 연구에서는 인진호, 금은화, 하고초, 지구자 등의 한약재를 주성분으로 하는 숙취해소용 한방 복합제제 HCE-2의 간 기능 보호 효능을 실험적으로 검증하고자 하였으며 이를 위해 에탄올을 5주간 장기 투여한 만성 알코올 중독 모델을 확립하였고 이렇게 제조된 실험용 쥐에서 간조직 손상을 나타내는 주요 효소인 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT) 활성 및 간조직에 대한 조직학적 분석결과를 지표로 본 복합 추출물의 알코올성 간손상 억제 및 간기능 보호 효과를 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 한방복합제제 추출물의 제조

본 한약복합추출물 HCE-2는 인진호, 금은화, 하고초, 지구자 등을 주성분으로 제조되었으며 4종류 한약재를 각각 150 g씩 혼합하여 열탕 가열하여 추출하였다. 본 복합제제의 열탕추출액 제조는 다음과 같다. 5000 ml 용량의 볼 플라스크에 경희대 한방병원으로부터 구입한 복합제제 총 600 g을 증류수 3 L에 30분 가량 담가 불려 놓는다. Multiple Roast Mantle (TOPS Co., 모델명 MS-EAM-JM) 약탕기에서 1.5시간을 끓인 후 거즈로 걸러서 추출액만 플라스크에 모은다. 약액을 플라스크에 담고 감압농축기 (R-124A, Buchi Ltd., Switzerland)를 이용하여 감압농축 한다. 농축된 약액을 식힌 후, deep freezer(Upright type #725, Forma Scientific Co. USA)에서 overnight 방치하여 충분히 얼린 후, 72

시간 동안 완전히 동결건조 (Telstar Lioalfa-6, Spain)시켰다.

2. 세포 배양

Mouse macrophage cell line인 RAW264.7은 (사)한국세포주은행 (서울대학교, 한국) 으로부터 분양 받았다. RAW 264.7은 10% (v/v) fetal bovine serum (FBS)과 penicillin 100 U/ml와 streptomycin 100 µg/ml의 항생제를 포함하는 DMEM 배지를 사용하여 실험실에서 37°C, 5% CO₂ 공급조건을 갖춘 동물세포 배양기에서 배양하였다.

3. MTT assay

RAW 264.7 세포에 대한 본 한방복합제제의 세포독성 여부를 측정하기 위하여 세포 활성 측정법인 MTT assay를 수행하였다. RAW 264.7 세포를 동물세포 배양용 96 well plate에 7×10⁴ cells의 농도로 준비하였다. 한방복합제제 처리 전에 FBS가 포함되지 않은 배지에 3시간 동안 적응을 시켰다. 이후 각각의 농도로 준비된 약제를 2시간 동안 전처리 하였다. 1 µg/ml 농도로 LPS를 추가 첨가하고 24시간 배양한 후 5 mg/ml의 MTT를 각 well 당 10 µl씩 첨가하였고, MIT가 환원되도록 1시간 더 배양하였다. 배양 종료 후, 상층액을 제거하고 배지와 동량의 acidified isopropanol을 첨가하여 10분간 방치하였다. 흡광도는 EmaxTM ELISA reader (Molecular Devices Co., USA)로 570 nm에서 측정하였다.

4. 실험동물 및 처치

실험동물은 (주) 샘타코 (경기 오산)로부터 구입한 Sprague-Dawley (SD)계 웅성 흰 쥐 230 g을 사용하였다. 동물은 일정한 온도 (23±1°C)와 규칙적인 조명(12시간 명/암)이 자동적으로 조절되는 동물실에서 사육되었고 사료와 음수가 자유롭게 공급되었으며, 일주일간의 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용하였으며, 쥐는 정상군 (Normal, n=6), 무처리 대조군 (Control, n=6), 식염수 처치군 (Saline, n=6), 한방복합제제 처리군 (HCE-2, n=6)의 네 군으로 분류하였다. 실험기간은 5주 동안이며 매일 오전 10시에 1회씩 같은 시각에 알코올을 투여하였으며 투여 30분전에 식염수 처치군과 HCE-2 처리군에는 각각 식염수 1.2 ml과 한방복합제제 1.2 ml을 경구 투여하였다. 알코올은 체중 kg 당 4 g 수준으로 경구 투여하였고, 정상군은 아무런 조건도 주지 않았다. 실험 15일째, 투여 5시간 후에 모든 군의 실험동물로부터 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 4°C, 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청을 얻고, 즉시 -80°C의 초저온 냉동고에 넣어 급속 동결시켜 보관하였다.

5. 체중 (Body weight)

알코올 투여 시작인 0일을 포함하여 실험 종료일인 38일째 까지 각 실험군의 체중을 2일 간격으로 측정하였다. rat몸무게는 개체의 크기에 맞는 플라스틱 용기에 넣은 후, digital balance로 측정하였다.

6. 혈중 간 기능 지표 효소의 활성 측정

Aspartate aminotransferase (AST, 또는 SGOT (serum glutamic oxaloacetic transaminase) 라고도 불림) 및 alanine aminotransferase (ALT, 또는 SGPT (serum glutamic pyruvic transaminase)라고도 불림) 활성도는 Reitman-Frankel의 방법에 준해 제조된 ELISA kit (AM101-K, (주)아산제약)를 사용하여 측정하였다¹⁰⁾. AST 또는 ALT 기질 1.0 ml를 37°C에서 5분간 방치한 후 혈청 0.2 ml를 가하고 37°C에서 AST의 경우 60분, ALT의 경우 30분간 반응시킨 다음에 정색시약인 2,4-dinitrophenyl hydrazine 1.0 ml를 첨가하고 실온에서 20분간 방치한 후 0.4N NaOH 10 ml를 넣어 반응을 중지시켰다. 20분 후에 505 nm에서 증류수를 백검으로 하여 표준액, 검액의 흡광도를 측정하여 표준액의 검량곡선으로부터 효소의 활성단위를 환산하여 비교 관찰하였다. 활성도 단위는 혈청 ml 당 Karmen 단위로 표시하였다.

7. 조직학적 관찰 (Histology)

알코올 투여 후 38일째 날에 정상군, 식염수군, 약제 처리군의 흰쥐를 단두(decapitation)하여 혈액을 제거하고 중간엽 (median lobe) 에서 간 조직을 적출한 후 4% paraformaldehyde (PFA)에 담가 4°C에서 12~16시간 동안 고정하였다. 고정된 sample은 70%, 80%, 90%, 95%, 100% ethanol을 이용하여 탈수하고 xylene으로 투명화하고 paraffin용액으로 침윤시킨 후 paraffin으로 포매 하였다. 조직은 6 μm 두께로 saggital section을 만들어 poly-L-lysine-coated slide에 올려놓았다. H-E staining 은 조직절편을 xylene으로 탈과라핀화 시킨 다음 100%, 95%, 80%, 70% ethanol을 이용하여 단계별로 탈수과정을 거친 뒤 증류수에 수세시켰다. Hematoxylin 용액에 7분간 담근 후 다시 증류수에 수세과정을 거쳐 1% HCl-alcohol에 분별시키고 다시 수세시켰다. 0.5% ammonia water에서 1분간 담가 음전하(-)를 띤 핵 내 인산기(phosphate group)를 청색으로 염색시킨 다음 증류수로 수세하고 1% Eosin으로 양(+)으로 하전 되어 있는 세포질이나 결합조직을 분홍색으로 염색시켰다. 증류수로 수세하고 80%, 95%, 100% ethanol로 재탈수 시킨 후 xylene으로 투명화하고 봉입하여 광학 현미경(BX51, Olympus Co., Japan)으로 조직사진을 촬영하였다.

8. 통계처리

실험 결과의 통계분석은 SPSS를 이용하였고, 각 실험군마다 평균값 ± 표준오차로 나타내었으며, 각 군 간의 유의성은 ANOVA에 의해 검증하였다.

결 과

1. 한방복합제 추출액 HCE-2의 세포독성

본 한방복합제 추출액의 세포독성을 알아보기 위하여 다양한 농도의 추출액을 24시간 동안 RAW 264.7 세포에 처리한 후의 세포 생존율을 Fig. 1에서 나타내었다. 생존율은 추출물을 처리하지 않은 경우를 100%로 하여 상대적으로 나타내었다. 한방복합제 추출액 HCE-2를 1/2로 희석하여 처리했을 때는 54.9%로서 대조군과 비교하여 생존율이 감소하였고, 1/4이하로 희석

한 경우에는 각각 90.9, 92.3, 102.8, 101.9 과 97.2%로서 대조군과 생존율의 차이가 거의 없었다. 이러한 결과로 한방복합제 추출액은 1/4 이하로 희석한 농도에서부터는 세포독성이 없는 것으로 판단된다.

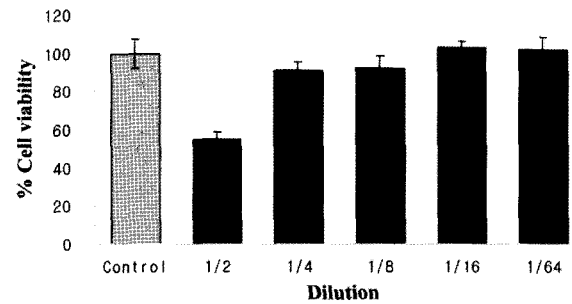


Fig. 1. Cytotoxic effect of HCE-2 on RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with various concentrations of HCE-2, and cytotoxicity was measured using MTT assay.

2. 체중 (Body weight)

체중은 알코올 투여 후 15일째부터 정상군과 실험군들 간에 차이가 나타나기 시작하였다(Fig. 2). 정상군에 비해 알코올을 투여한 식염수군과 한방약제 처리군은 15일째부터 체중 증가율이 감소하기 시작하여 정상군에 비해 체중이 차이가 나기 시작하였으며 실험 종료일인 38일째까지 그 차이가 유지 되었다. 식염수군과 한방약제 처리군은 비슷한 체중증가율을 보였으며 두 군 간에는 통계적으로 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

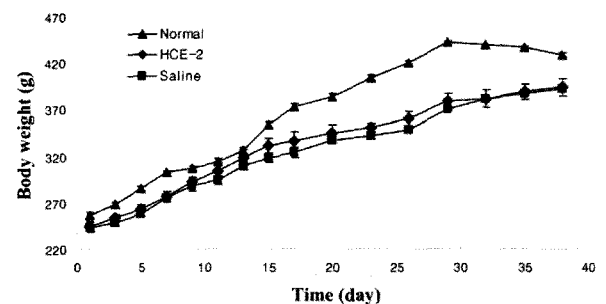


Fig. 2. Change in body weights of rats chronically administered with alcohol. Normal, HCE-2 and saline indicate non-treated group (n=6), HCE-2-treated group (n=6) and saline-treated group (n=6) on chronic alcohol administration in rat, respectively. The treatments to normal, HCE-2 and saline groups were started on 1th day after alcohol treated and lasted for 38 days.

3. 한방복합제 추출액 HCE-2의 알코올성 간 손상 보호 효과

간 손상으로 인해 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행되면 그에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되기 때문에 혈중 AST(또는 SGOT)와 ALT (또는 SGPT) 효소 활성은 간손상의 지표가 된다¹¹⁾. 알코올을 투여한 후 15일째에 혈중 AST와 ALT의 활성을 측정한 결과를 Fig. 3에서 나타내었다. 정상군과 비교하여 알코올 투여군의 혈중 AST와 ALT 활성이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 만성적인 알코올 투여로 인해 간 손상이나 간 기

능의 저하가 일어났음을 확인 하였다(Fig 3A). 반면에 한방약재 처리군의 혈중 AST와 ALT 활성은 식염수군에 비해 유의하게 감소하였다(Fig 3B).

고찰

본 실험에서는 한의학적으로 해독과 간기능 강화 등에 효과가 있는 것으로 알려진 수종의 한방성분을 혼합, 열탕 추출하여 제조한 한방 복합제제 추출물 HCE-2가 알코올을 5주간 투여한 쥐의 간 손상에 대한 보호효과를 확인하고자 하였다.

본 한방 복합제제 추출물 HCE-2의 주요 한방성분은 인진호, 금은화, 하고초, 지구자 등을 주성분으로 하며 각 성분의 한의학적 특성 및 약리 작용을 알아보면 다음과 같다¹⁵⁾. 인진호(茵陳蒿)는 국화과의 사철쑥(*Artemisia capillaris* Thunb.)의 지상부를 말린 약재를 말하며 한의학적으로는 열을 내리고 습을 제거하는 기능이 있어 주로 이담, 해열, 항균, 항염, 이뇨, 및 혈압강하 등의 약리 작용을 한다.

금은화(金銀花)는 인동과의 인동덩굴(*Lonicera japonica* Thunberg) 또는 그 변종의 꽃봉오리를 가리키며 녀쿨이 살아서 추운 겨울에도 시들지 않기 때문에 인동(忍冬)이란 이름이 붙여졌고 금은화란 이름은 처음 피는 꽃이 흰색이지만 차차 노랗게 변해간다 해서 붙여진 이름이다. 한의학적으로 이 약재는 특이한 냄새를 띠며 맛은 달고 성질은 찬 특성을 갖는다. 따라서 체열을 내리고 해독의 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 티푸스균, 파라티푸스균, 대장균, 녹농균, 백일해균, 변형균, 포도상구균, 연쇄상구균, 폐렴 쌍구균, 뇌막염구균 등과 같은 체외의 여러 세균들이 대해 항균작용을 갖는 것으로 알려져 있으며, 또한 콜레스테롤 억제 효과 등이 보고되기도 하였다.

하고초는 익모초라고도 불리는데 풀쭈과와 속근성 다년초 관화식물(*Prunella vulgaris* var. *lilacina* Nakai)로 여름이 지나면 마르므로 '하고초(夏枯草)'라 불려진다. 전초는 triterpenoid saponins을 함유하며, 그 sapogenin은 oleanolic acid이다. 중약대 사전에는 맛은 쓰고 매우며 성질은 차고 무독하며 간과 담경으로 들어간다고 되어있다. 한의학적으로는 간기를 맑게 하고 울결을 풀어주므로 나력, 영류, 급성 유선염, 유암 등에 사용되며, 전통적으로 고혈압, 폐결핵, 삼출성 흉막염, 세균성 이질, 황달성 간염 등에 기본적으로 사용되어지는 약재이다. 최근의 약리실험에서 혈압강하작용, 이뇨작용, 항균작용 등이 밝혀지기도 하였다^{15,16)}.

지구자는 갈매나무과의 갈잎떨기나무 헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb.)의 종자로서 맛은 달고 성질은 평하며, 다량의 glucose와 calcium malate이 함유되어있다. 의학적 효능은 청열 이뇨(淸熱利尿), 지갈제변(止渴除煩), 해주독(解酒毒)하므로 열병으로인한 번열(煩熱) 증상이 있는 것을 치료하고, 팔콕질과 구토에도 효력을 나타내며, 소변을 잘 못 볼 때 이뇨시키는 작용을 가지며, 알코올간염 간경화 지방간 황달 등 알코올로 인한 간장 질환에 특히 유효하여 민간에서는 간장질환 치료제로 널리 쓰인다. 또한 최근 여러 곳의 연구에 따르면 유방암과 간암, 위암 등 각종 암에 대해 최고 90%의 암세포의 박멸효과가 있는 것으로 밝혀졌으며 혈압과 혈당(당뇨)조절, 간 기능 활성 및 간 해독작용. 특히 숙취해소 및 알콜 분해작용은 70~80% 이상의 탁월한 효과가 있는 것으로 알려졌다¹⁵⁾.

쥐를 대상으로 실험하기에 앞서 우선 본 한방약재의 세포독

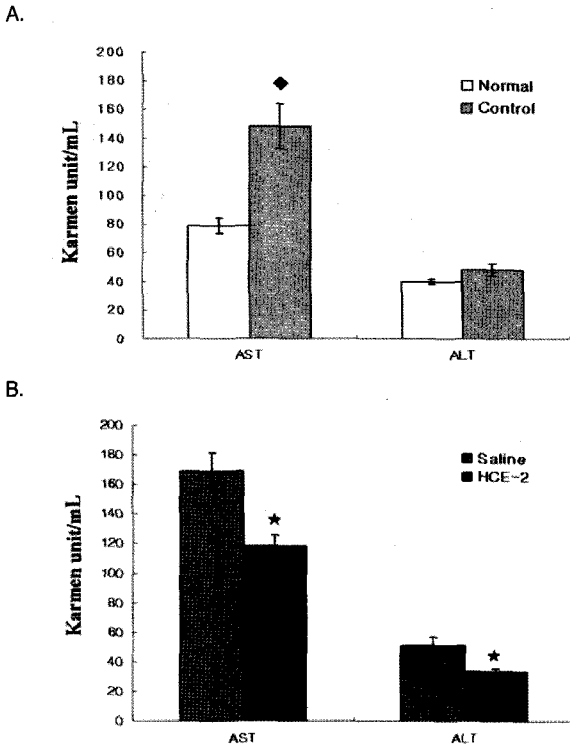


Fig. 3. Effect of HCE-2 on AST and ALT activities in rats. Each bar represents mean±S.E. of at least six rats. ◆ Significantly different from normal group at p<0.05. * : Significantly different from saline group at p<0.05.

4. 조직학적 관찰 (Histology)

장기 알코올 투여가 간에 미치는 영향을 알아보기 위해 알코올 투여 38일째 되는 날 정상군, 식염수군, 한방약재 군의 간조직을 적출하여 조직검사를 실시하였다. 그 결과 정상군의 간조직(Fig. 4A)에 비해 본 한방약재를 처리한 쥐의 간이 조직학적으로 별다른 차이를 보이지 않는 것에 반해 식염수군의 간은 지방방울들이 곳곳에서 관찰되었다(Fig. 4B).

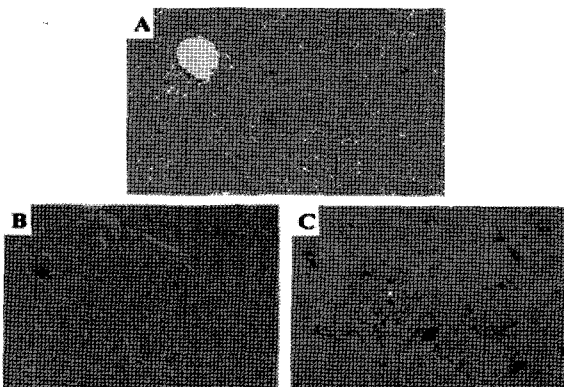


Fig. 4. Histopathological changes of rat liver by H-E staining. Appearance of normal liver (A), HCE-2 treated liver (B) and saline treated liver (C) on chronic alcohol administration in rat's liver (40X).

성을 살펴보기 위해 MTT assay를 실시하였다. MTT assay는 살아있는 세포를 정량적으로 측정할 수 있는 방법으로서 미토콘드리아의 dehydrogenase에 의해서 노란색의 수용성 MTT tetrazolium은 청자색의 비수용성 formazan으로 환원되고, 생성된 formazan의 양은 살아있는 세포의 수에 비례하게 된다¹⁷⁾. formazan을 많이 형성하여 흡광도가 높게 나올수록 대사가 왕성하고 살아있는 세포의 수가 많다고 할 수 있다.

본 한방약재의 농도에 따른 세포독성을 알아보기 위해 약재 추출물을 단계적으로 희석시켜 RAW 264.7 세포에 처리하고, 약재를 처리하지 세포를 기준으로 하여 상대적인 생존율을 비교하였다. 그 결과, 약재를 1/2로 희석하여 처리했을 때는 세포의 생존율이 감소하였지만 약재를 1/4이하로 희석하여 처리했을 때는 미처리 세포와 비교하여 세포의 생존율의 차이가 없어 세포독성이 관찰되지 않았다(Fig. 1).

알코올 투여 후 5주 동안 체중 변화를 관찰한 결과 투여 15일째부터 정상군과 알코올 투여군들 간에 몸무게 증가율이 차이를 나타내기 시작하였다(Fig. 2). 알코올을 투여한 쥐들은 투여 후 일정기간이 지난 후부터 정상쥐들에 비해 몸무게의 증가량이 현저히 낮아졌으며 이는 장기적인 알코올 투여로 인해 쥐들의 신진대사에 영향을 미치는 동물모델이 만들어진 것을 의미한다.

만성적 알코올 중독은 내분비계에 알코올에 의한 손상을 입게 되는데 특히 간에서는 알코올에 의해서 대사되지 않은 지방산이 축적되어 그 결과 지방간이 야기되며 이것이 심화 되면 간 세포의 파괴를 초래하게 된다. 또한 알코올을 장기간 섭취하게 되면 MEOS에 의한 알코올 산화가 증가되어 oxygen radical이 생성되고 지질과산화이 일어난다¹⁰⁾. 지질과산화는 간 손상을 유발하고 간세포의 세포사멸을 증가시켜 혈중 AST와 ALT 활성을 높인다. AST와 ALT는 간 질환의 판정 효소로서 혈중 AST, ALT 활성이 높아지면 간 기능이 저하되었음을 나타낸다.

알코올의 장기 투여가 혈중 AST와 ALT 활성에 어떤 영향을 확인하기 위해 에탄올을 투여하지 않은 정상군과 혈중 AST와 ALT 활성을 비교하였다. 그 결과 체중의 변화가 시작되는 알코올 투여 15일째에 혈중 AST와 ALT 활성이 정상군에 비해 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 3A). 혈중 AST와 ALT 활성이 증가하는 것은 알코올에 의해 생긴 간 손상 유발물질이 간의 대사에 이상을 초래하고 간세포를 손상시키기 때문이다¹⁸⁾.

이상의 결과로 본 연구에 사용된 알코올을 장기 투여한 쥐에서 신진대사활동이 감소하고 알코올 산화에 의한 혈중 AST와 ALT의 활성이 증가 되는 동물모델이 확립되었음을 확인하였다¹⁹⁾.

본 한방복합제 추출물이 알코올을 장기 투여한 쥐의 혈중 AST와 ALT 활성에 미치는 영향을 측정하기 위해서 5주 동안 알코올을 투여하기 전에 한방약재를 경구 투여하고, 약재 대신 같은 양의 식염수를 투여한 식염수군과 비교하였다. 그 결과, 한방약재 투여군의 혈중 AST와 ALT 활성이 실험 대조군으로 사용된 식염수군에 비해 유의하게 감소하였음을 확인하였으며 이는 알코올 장기 투여로 인한 간세포 손상 수준이 본 한방약재의 투여에 의해 유의성 있게 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 3B). 또한 조직학적 관찰에서 정상군, 식염수군, 한방약재 처리군의 간조직

검사를 실시한 결과 정상군의 간조직 (Fig. 4A) 과 한방약재를 처리한 쥐의 간조직 (Fig. 4B) 이 조직학적으로 별다른 차이를 보이지 않는 것에 반해 식염수군의 간은 지방 미세 그레놀의 침착이 곳곳에서 관찰되었다(Fig. 4C).

따라서 본 연구에서 한방복합추출물을 쥐에 투여할 때 알코올 투여로 인해 증가되는 혈중 AST, ALT 활성이 유의성 있게 감소되었으므로 본 한방복합제 추출물이 알코올에 의해 유발되는 간 조직 손상을 완화시키거나 보호작용을 수행함으로써 간 기능을 개선시키는 것으로 생각되며 또한 본 연구에 사용된 한방복합제 투여량과 투여기간 내에서는 간 조직에 독성이나 추가적인 손상을 일으키지 않을 것으로 판단된다.

결론

간 보호 작용과 해독에 탁월한 효과가 있다고 알려진 인진호, 금은화, 시호, 백출 등을 혼합, 열탕 추출하여 제조한 한방복합제 추출물 HCE-2가 장기간 알코올을 투여한 쥐의 간 손상에 어떤 영향을 미치는지 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 장기간 알코올을 경구 투여한 쥐는 정상쥐에 비해 체중 증가량이 감소하였고 알코올 산화에 의한 혈중 AST, ALT의 활성이 증가 되었으며, 간 중엽에서 지방방울들이 확인되어 간에 손상을 주는 것이 확인되었다.

이에 비해 알코올을 투여하기 전에 한방약재를 경구 투여한 쥐의 경우는 식염수군에 비해 알코올 투여로 인해 증가하는 혈중 AST, ALT 활성을 유의하게 감소시켜주는 효과를 보이며 간 조직에 미치는 독성을 최소화하여 지방간으로의 변이를 막아주는 것을 확인할 수 있었다.

이상의 실험결과를 종합해 볼 때 본 한방복합제제를 복용하면 과도한 음주로 인해 발생하는 간 독성, 즉 간 조직 및 세포의 손상을 막아주어 간 보호 작용을 하는 것으로 확인 되었으며, 이는 본 한방복합제제가 한방속취해소제제 또는 기능성 속취해소 음료 소재로 개발될 수 있는 가능성을 확인한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부/한국과학재단 우수연구센터육성사업(R11-2005-014)의 지원으로 수행되었음

참고문헌

1. Lieber, C.S. Alcohol and the liver: Metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. Acta. Med. Scand. (Suppl). 703: 11-55, 1985.
2. Marjanen, L. Intracellular localization of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem. J. 127: 663-639, 1972.
3. Gill, K., Amit, Z., Smith, B.R. The regulation of alcohol consumption in rats: the role of alcohol, metabolizing enzymes, catalase and aldehyde dehydrogenase. Alcohol.

- 13(4): 347-355, 1996.
4. Lieber, C.S., DeCarli, L.M. Hepatic microsomal ethanol oxidizing system: In vitro characteristics and adaptive properties in vivo. *J. Biol. Chem.* 245: 2505-2512, 1970.
 5. Nordmann, R., Ribiere, C., Rouach, H. Implication of free radical mechanisms in ethanol-induced cellular injury. *Free Radic. Biol. Med.* 12: 219-240, 1992.
 6. Lieber, C.S. Ethanol metabolism, cirrhosis and alcoholism. *Clin. Chem. Acta.* 257(1):59-84, 1997.
 7. Kim, K.W., Yang, J.S., Lee, J.S., Cho, Y.S., Kang, S.K., Chung, H.K. Activity of alcohol dehydrogenase and ethanol, acetaldehyde levels in normal adults blood. *Korean Indus. Hyg. Assoc. J.* 4: 240-247, 1994.
 8. Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., Rodwell, V.W. Lipids. In: *Harper's Biochemistry*. Connecticut: Appleton & Lange. 260, 1993.
 9. French, S.W. Biochemical basis for alcohol-induced liver injury. *Clin. Biochem.* 22: 41-49. 1989.
 10. Lieber, C.S. Hepatic, metabolic and toxic effects of ethanol. *Clin. Exp. Res.* 15: 573-592. 1991.
 11. Wheeler, M.D., Nakagami, M., Bradford, B.U., Uesugi, T., Mason, R.P., Connor, H.D., Dikalova, A., Kadiiska, M., Thurman, R.G. Overexpression of manganese superoxide dismutase prevents alcohol-induced liver injury in the rat. *J. Biol. Chem.* 276: 36664-36672, 2001.
 12. Abdellah, M., Demelliers, C., Amsellem, S., Pessayre, D., Fromenty, B. Acute ethanol administration oxidatively damages and depletes mitochondrial DNA in mouse liver, brain, heart, and skeletal muscles: protective effects of antioxidants. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 298: 737-743, 2001.
 13. Burk, R.F., Hill, K.E., Awad, J.A., Morrow, J.D., Kato, T., Cockell, K.A., Lyons, P.R. Pathogenesis of diquat-induced liver necrosis in selenium-deficient rats. Assessment of the roles of lipid peroxidation by measurement of F2isoprotanes. *Hepatology.* 21: 561-569, 1995.
 14. Kim, H.S., Kim, Y.G., Son, H.J. Effect of Pueraria lobata extract water on the ethanol metabolism enzyme activities in ethanol administered rats. *J. Agri. Tech. & Dev. Inst.* 3: 219-225, 1999.
 15. 김창만, 신민규, 안덕균, 이경순 외. 完譯中藥大辭典, 9)鼎談, 2: 582-587, 7: 3500-3506, 8: 3938-3939, 1999.
 16. 본초학. 전국한의과대학 본초교수 공 편저. 도서출판 영림사, pp 169-170, 1991.
 17. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Method.* 65: 55-63, 1983.
 18. Zimmerman, H.J. Chemical hepatic injury and its detection: In toxicology of the liver. New York, Raven press. pp 1-10, 1981.
 19. Jin-Taek Kim, Dong-Hoan Kim, Sang-Hyun Ahn. The effect of chronic alcohol administration to alteration of liver, kidney and stomach in mouse. *The Journal of Dong Guk Oriental Medicine* 3: 163-169, 1994.