

원 저

淸肝解酒湯이 알코올代謝 및 損傷肝에 미치는 影響

곽미애, 이장훈, 우홍정

경희대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)* on Alcohol Metabolism and Alcoholic Liver Damages

Mi-Ae Kwak, Jang-Hoon Lee, Hong-Jung Woo

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University

Objectives : This experiment was conducted to verify the effects of *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)* on the alcohol metabolism and liver functions, by measuring the activity levels of ADH and ALDH, as well as glucose, triglyceride, and BUN. Damage of the liver cells caused by alcohol was determined through the examination of serum levels of AST, ALT, ALP, LDH, and uric acid.

Methods : Sprague-Dawley rats were used in this experiment and the rats were divided into control and experiment groups. *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)* extract was orally administered in the experiment group for three weeks. Each group was further classified into two sub-groups, and control group's blood was taken without oral ingestion of alcohol, while the experiment group's blood was withdrawn after ingestion of alcohol. Evaluation of damage level was done considering the presence of extract and alcohol.

Results : In this experiment, *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)* significantly suppressed the activity of ADH which is a precursor enzyme of acetaldehyde, but didn't cause significant changes in the activity of ALDH which is a catabolic enzyme. Decreased glucose level due to alcohol consumption was recovered back to the normal level and increased levels of triglyceride, BUN, AST, ALT, ALP, LDH, and uric acid were significantly reduced.

Conclusions : These experiment results suggest that *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)* inhibits the formation of acetaldehyde in the metabolism of alcohol, and affects the recovery of weakened liver functions due to alcohol. (J Korean Oriental Med 2000;21(1):68-76)

Key Words: *Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)*, ADH, ALDH

서론

최근 우리나라의 알코올 소비량이 생활양식의 서구화와 더불어 점차 증가하고 있는 추세에 있다¹⁾. 이러한 사실은 우리나라의 주된 간질환의 원인으로 알려진 바이러스성 간염에 비해 지방간, 알코올성 간염, 알코올성 간경변증 등 알코올성 간질환이 매년 증가한다는 보고²⁾와 매우 밀접한 관련이 있다. 특히 여성 음주자의 증가와 음주 연령의 연소화 경향에 따라 점차 우리 사회에 중대한 문제로 대두될 것으로 예견되며 이에 대한 대책도 시급한 실정이다.

한의학에서는 음주로 인한 內傷을 酒傷이라 하고, 酒傷

과 관련되는 간질환은 주로 酒疸, 酒積, 酒癖, 酒癪 등의 증후에서 관찰하고 있다³⁾. 內經에서는 음주과다로 인한 氣의 變調와 병리현상에 대해 자세히 설명하였는데, 《靈樞·論勇篇》⁴⁾에서 飲酒過度하면 氣가 上逆하여 肝浮膽橫한다 하였고, 《素問·厥論篇》⁵⁾에서는 醉飽入房하면 酒氣와 穀氣가 相搏하여 中焦盛熱하고 內熱이 생겨 尿赤한다고 하였다. 이후 張⁶⁾은 과음으로 인한 黃疸을 酒疸로 기술하였고, 巢⁷⁾는 酒疸, 酒癖에 대해 언급하고 臟器의 虛實에 따른 변화를 관찰하였다.

체내의 알코올 대사는 주로 세가지의 효소 system에 의해 대사되는데, ADH(alcohol dehydrogenase), MEOS(microsomal ethanol oxidizing system) 및 catalase에 의한 경우이다. 이 중 간에서의 ADH에 의한 알코올의 대사는 알코올의 독성에 주요한 요인으로 알려져 있다. 알코올은 ADH에 의해 acetaldehyde로 전환되고, 다시

· 접수 : 2000년 4월 19일 · 수정 : 5월 13일 · 채택 : 5월 16일
· 교신저자 : 이장훈, 서울시 동대문구 회기동 1 경희의료원 한방병원 간계내과 (Tel. 02-958-9115)

ALDH(aldehyde dehydrogenase)에 의해 acetic acid로 전환되어 체내의 에너지 대사에 이용된다. 이 과정에 있어 두 효소 모두 NAD+를 NADH로 환원시켜 체내의 NADH/NAD+의 비율을 증가시킨다. 알코올과 알코올의 대사 과정 중 생기는 부산물인 acetaldehyde, 그리고 증가된 NADH/NAD+ 비율은 알코올의 독성에 직접적인 원인이 된다. Acetaldehyde는 세포내의 각종 단백질과 세포막을 변형시켜 독성을 나타내고 증가된 NADH/NAD+ 비율은 지질, 당류, 단백질, 핵산과 호르몬 등의 대사에 직접 영향을 준다⁸⁾.

清肝解酒湯은 酒傷에 대표적인 처방으로 활용되고 있는 對金飲子에 茵陳四苓散을 合方하고 酒毒에 사용되는 葛根, 赤楊 등을 가미하여 구성된 방제이다.

對金飲子에 대한 실험적 연구는 柳⁹⁾, 金¹⁰⁾ 등이 加味對金飲子가 알코올로 인한 간손상 회복에 효과가 있음을 보고하였고, 茵陳四苓散에 대한 연구로는 朴¹¹⁾ 등이 알코올로 유발된 흰쥐의 혈청 glucose, triglyceride, BUN 함량의 증가에 대해 모두 유의한 억제 효과를 보고한 바 있다. 葛根에 대해서는 禹¹²⁾ 등이 알코올 유발 손상간에 대해 유의성 있는 간기능 개선효과를 보고하였고, 赤楊과 관련해서는 裴¹³⁾가 실험적 간손상에 대해 간보호작용을, 洪¹⁴⁾은 赤楊生肝湯이 알코올성 간손상의 개선효과와 혈중 알코올 농도의 증가를 유의성 있게 감소시켰다는 보고를 하였으나, 이들 약물들이 구체적으로 알코올대사에 미치는 영향에 대한 연구는 未備한 실정이다.

따라서 본 실험에서는 清肝解酒湯이 알코올대사와 간기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 알코올분해효소인 ADH, ALDH의 활성도와 glucose, triglyceride, BUN (Blood urea nitrogen)을 측정하였으며, 알코올로 유발된 간세포손상에 미치는 영향을 알아보기 위해 AST (Aspartate aminotransferase), ALT(Alanine aminotransferase), ALP(Alkaline phosphatase), LDH(Lactate dehydrogenase), uric acid 등을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료 및 동물

1) 재료

본 실험에 사용한 약제는 한약규격집¹⁵⁾에 근거하여 경희의료원 한방병원 약제과에서 구입하여 (단, 赤楊은 경동시장에서 구입하여 경희대학교 본초학 교실에 의뢰하여 精選) 사용하였으며 처방의 내용과 1첩의 분량은 다음과 같다.

2) 동물

본 연구에 사용된 동물은 중앙동물사육장에서 공급받은 Sprague Dawley계의 雄性 흰쥐를 이용하였으며, 체중은 180~220g이었다. 사료는 삼양유지사료(주)의 고품사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험을 시작하였다. 실험실 온도는 24±2℃였다.

3) 검액의 조제

清肝解酒湯 5첩 590g 분량을 3차 증류수 10 l 로 2시간 동안 2회 환류추출한 후 면으로 여과하여 그 남은 액을 80℃ 물 중탕 위에서 감압 농축하고, 동결건조기(Christ LDC-1, ALPh a/4, Germany)를 이용하여 114.6g의 추출물을 얻었다(收率: 19.1%).

2. 방법

清肝解酒湯이 알코올에 의한 손상간에 미치는 역할을 관찰하기 위해 실험동물 12마리를 각각 6마리씩 대조군과 실험군으로 나누고 실험군에는 上記의 검액 750mg/kg를 24시간에 한번씩 3주간 경구투여하였다. 또 각 군을 6마리씩 나누고 정상대조군은 알코올의 경구투여가 없는 상태에서 혈액을 취하였고, 실험군은 알코올이 투여된 상태에서 혈액을 취하여 검액의 유무와 알코올의 유무에 따른 손상간의 정도를 평가하고자 하였다. 알코올은 3주간, 하루에 1회, 30% 알코올을 25ml/kg이 되게 경

Contents of Chungganhaeju-tang

	Herbs/Scientific Name	Dose
茵 陳	(<i>Artemisiae capillaris</i> Herba) / <i>Artemisiae capillaris</i> THUNB	30g
陳 皮	(<i>Aurantii Nobilis Pericarpium</i>) / <i>Citrus aurantium</i> var. <i>daidai</i> MAKINO	12g
葛 根	(<i>Puerariae Radix</i>) / <i>Pueraria thunbergiana</i> BENTH	12g
赤 楊	(<i>Alny Cortex et Ramulus</i>) / <i>Alnus japonica</i> STEUD.	12g
白 朮	(<i>Atractylodis Rhizoma Alba</i>) / <i>Atractylodes macrocephala</i> KOIDZ	8g
茯 苓	(<i>Hoelen</i>) / <i>Poria cocos</i> (SCHW.) WOLF	8g
澤 瀉	(<i>Alismatis Rhizoma</i>) / <i>Alisma plantago-aquatica</i> var. <i>orientale</i> SAMUELS	8g
	(<i>Polyporus</i>) / <i>Polyporus umbellatus</i> (PERS.) FRIES	8g
厚 朴	(<i>Machili Cortex</i>) / <i>Magnolia officinalis</i> REHD. et WILS	8g
貢 砂 仁	(<i>Amomi Fructus</i>) / <i>Amomum xanthioides</i> WALL.	6g
甘 草	(<i>Glycyrrhizae Radix</i>) / <i>Glycyrrhiza uralensis</i> FISCH.	6g
Total		118g

구투여하였다. 3주 후 쥐를 클로로포름으로 마취한 후, 혈액은 심장에서 주사기로 취하여 EDTA를 함유한 시험관에 옮기고, bench-top 원심분리기를 이용하여(15,000 rpm) 혈청을 준비하였다.

실 험

1. 알코올 대사효소에 대한 작용평가

1) Alcohol dehydrogenase에 대한 저해 활성 검사

동결 건조된 alcohol dehydrogenase (Sigma Co.)를 구입하여 1mg을 0.1% 알부민(bovine serum albumin)을 함유한 0.1M sodium phosphate(pH 7.5)에 녹이고 5 μ 를, NAD (7.5mM)과 에탄올(0.33M)을 함유한 Tris-Lys 1ml 용액(pH 9.2)에 더하여 UV spectrophotometer를 이용하여 340nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 검액 투여 후 이 값이 감소하는 정도를 측정하여 이 효소의 활성에 관한 淸肝解酒湯의 저해효과를 검사하였다.

2) Aldehyde dehydrogenase에 대한 저해 활성 검사

40 μ M acetaldehyde, 2mM NAD (Hepes 50mM, pH 7.5)에 aldehyde dehydrogenase (Boehringer Mannheim Biochemicals.) 0.01unit를 넣어 반응을 진행시킨 다음, 효소반응의 진행을 340nm에서 흡광도의 증가를 측정하였다. 같은 방법으로 검액 투여 후 활성도를 비교하여 효소 활성의 저해 효과를 측정하였다. 淸肝解酒湯과 효소의 기질인 NAD와의 관계를 연구하기 위하여 NAD의 농도를 0.5mM, 1.0mM 및 2.0mM로 변화시키면서 淸肝解酒湯의 농도 의존도를 조사하였다.

2. 알코올로 유발된 간대사 기능의 장애평가

1) Glucose의 량 측정

혈청 중 glucose의 량은 hexokinase와 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 두 효소를 coupling시켜 glucose의 량을 NADH로 환원시켜 관찰하였다. 이를 위하여 Sigma Glucose Assay Kit (Sigma Co.)를 이용하였고 Sigma에서 제공된 용액 1ml에 10 μ l의 준비된 혈장을 더하여 25 $^{\circ}$ C에서 5분간 방치한 후 340nm에서의 흡광도의 변화를 측정하여 glucose의 량으로 환산하였다.

2) Triglycerides의 량 측정

Triglycerides의 함량측정은 혈청내 triglyceride를 lipase를 이용해 glycerol로 전환시키고 이를 glycerol kinase에 의해 phosphorylation을 수행하여 glycerol-1-phosphate와 ADP를 생성하게 한다. 생성된 ADP를 pyruvate kinase와 lactate dehydrogenase를 이용하여 NAD의 환원반응과 연계시키는 효소법¹⁰⁾을 사용하였다. 이 경우 triglyceride는 생성된 NADH의 량과 같게 된다. 이에 따

라 Sigma Triglycerides Assay Kit (Sigma Co.)를 이용하여 혈액 내의 triglycerides의 총량의 측정을 수행하였다. Sigma에서 제공된 반응용액 1ml에 20 μ l의 준비된 혈장을 넣고 10분 후 340nm에서의 흡광도의 차이를 측정하여 이를 triglyceride의 량으로 환산하였다.

3) Blood urea nitrogen의 량 측정

Urease 10 Unit가 포함된 75mM sodium phosphate 완충용액 (pH 7.0) 1ml에 혈청 30 μ l를 넣어 반응을 시킨 다음, 생성된 NH₃를 phenylhypochlorite로 반응시켜 450nm에서의 흡광도를 측정하여 혈청 내에 있는 urea의 량을 정하였다.

3. 알코올로 유발된 간세포손상에 미치는 영향

1) Aspartate aminotransferase의 level 측정

Aspartate aminotransferase의 활성은 1ml의 L-aspartate 200mM, 2-oxoglutarate 12mM, malate dehydrogenase 600U/L, NADH 0.25 mM이 함유된 Hepes 완충용액 (pH 7.8)에 100 μ l의 혈청을 더하여 340nm에서의 흡광도의 시간당 감소율로 측정하였다.

2) Alanine aminotransferase의 level 측정

Alanine aminotransferase의 활성은 1ml의 L-alanine 400mM, 2-oxoglutarate 12mM, lactate dehydrogenase 2,000U/L, NADH 0.25mM이 함유된 Hepes 완충용액 (pH 7.4)에 100 μ l의 혈청을 더하여 340nm에서의 흡광도의 시간당 감소율로 측정하였다.

3) Alkaline phosphatase의 level 측정

0.5ml의 1.5M 2-amino-2-methyl-1-propanol (pH 10.3) 용액에 0.5ml의 15mM p-nitrophenyl phosphate 용액을 섞고 혈청을 100 μ l를 더하여 p-nitrophenol을 생성시켰다. 이에 NaOH를 가하여 발색시켜 410nm에서의 흡광도의 증가율을 측정하여 효소의 활성을 구하였다.

4) Lactate dehydrogenase의 level 측정

혈액 중 lactate dehydrogenase 효소활성도 측정은 Sigma Lactate Dehydrogenase Assay Kit (Sigma Co.)를 이용하여 수행하였다. 이 용액에는 50 mM의 lactate, NAD 7mM를 함유하고 있으며, pH는 8.9이다. 측정은 위의 용액 1ml에 50 μ l의 준비된 혈장을 더하여 25 $^{\circ}$ C에서 시간에 따른 340nm에서의 흡광도를 UV-Vis- spectrophotometer를 이용해 연속적으로 수행하여 흡광도의 시간에 따른 변화율을 구하였고 이를 NAD의 환원반응에 대한 환산을 하여 활성도를 측정하였다.

5) Uric acid의 level 측정

0.125 unit uricase, 5 unit peroxidase, 0.3mM 4-aminoantipyrine, 2mM 3,5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonate를 함유한 50mM Hepes 용액(pH 7.2)

1ml에 25 μ l의 혈청을 넣고 520nm에서 흡광도의 증가를 측정하여 혈청내 uric acid의 량을 구하였다.

결 과

1. 알코올 대사효소에 미치는 영향

1) Alcohol dehydrogenase에 대한 효과

ADH(alcohol dehydrogenase) 효소활성은 1.65 mUnit/ml의 활성을 보였으며 清肝解酒湯투여군(20 μ g/ml)에서는 0.363 mUnit/ml로 78%의 감소효과를 나타내었다.

따라서, 이러한 清肝解酒湯의 효과는 체내의 acetaldehyde의 농도를 낮추어 alcohol에 의한 독성을 감소시킬 수 있을 것이다. 이의 저해과정이 清肝解酒湯내 특별한 화합물이 존재하기 때문인지 아니면 비특이적 저해작용 인지를 알아보기 위하여 용량의 변화에 따른 저해현상을 조사하여 Fig. 1.에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 清肝解酒湯의 ADH 활성에 관한 효과는 清肝解酒湯의 농도 증가에 따라 역함수적으로 감소함을 보여주고 있으며 이는 清肝解酒湯내에 특정한 화합물이 효소의 저해작용을 유발하고 있음을 시사한다.

저해제가 효소의 기질과 경쟁적인 관계에 있을때 Fig. 1.의 결과를 처리하면 초기활성의 활성도의 반값이 되는 清肝解酒湯의 농도(Ki,app)는 12.2 \pm 1.14 μ g/ml로 나타났다.

2) Aldehyde dehydrogenase에 대한 효과

ALDH(aldehyde dehydrogenase) 효소활성은 2.52 mUnit/ml의 활성을 보였으며, 清肝解酒湯투여군(20 μ g/ml)에서는 2.39 mUnit/ml로 나타나 초기의 값과 유사함을 보여주었다.

ALDH에 관한 清肝解酒湯의 농도의존도는 농도가 증가하더라도 ALDH의 활성에는 거의 영향을 주지 않았다 (Fig. 2).

清肝解酒湯이 ALDH의 기질에 미치는 영향은 NAD를 0.5mM, 1.0mM, 2.0mM으로 증가시킨 뒤 실행하였으며 그 결과 0.5 mM에서는 40.2 \pm 3.3 μ g/ml, 1.0 mM에서는 64.1 \pm 7.8 μ g/ml, 2.0mM에서는 174 \pm 15 μ g/ml의 Ki,app를 나타내었다(Table 1).

2. 알코올로 유발된 간대사 기능 장애에 미치는 영향

1) Glucose에 대한 효과

清肝解酒湯이 혈액 중 glucose level에 미치는 영향은 정상군의 glucose 량인 48.1 \pm 6.1 mg/dL에 비하여 alcohol 투여군은 39.6 \pm 6.7mg/dL로 17.5%의 유의한 (P<0.05) 감소를 보였다. 清肝解酒湯 투여군의 경우 44.1

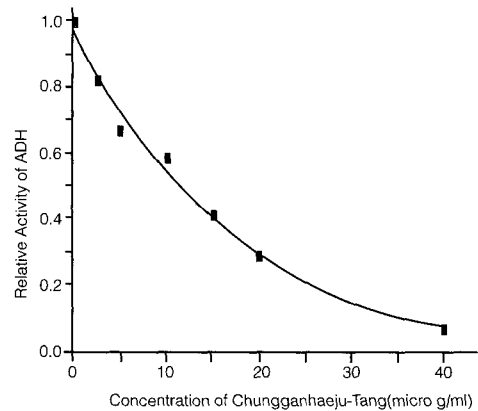


Fig. 1. Relative activity of ADH by the concentration of Chungganhaeju-tang (Qingganjieju-tang).

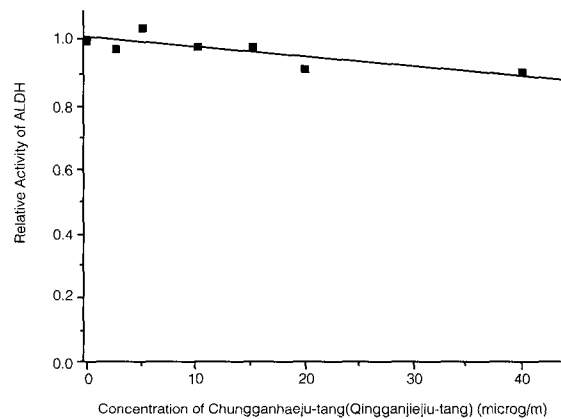


Fig. 2. Relative activity of ALDH by the concentration of Chungganhaeju-tang (Qingganjieju-tang).

Table 1. NAD-Dendency of Ki,app in ALDH

[NAD]	Ki,app(μ g/ml)*
0.5mM	40.2 \pm 3.3
1.0mM	64.1 \pm 7.8
2.0mM	174 \pm 15

* Ki, app는 초기 활성도의 반값을 가지기 위하여 필요로 하는 약물의 농도임.

\pm 6.4 mg/dL로 약간의 감소를 보여주었으나 유의성이 없었다. Alcohol 투여군과 清肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 清肝解酒湯+alcohol 투여군은 49.1 \pm 4.7 mg/dL로 유의성 있는(P<0.01) 증가를 나타내어 清肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 glucose의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다(Fig. 3).

2) Triglyceride에 대한 효과

清肝解酒湯이 혈액 중 triglyceride level에 미치는 영향은 정상군의 triglyceride 량인 55.4 \pm 6.1 mg/dL에 비하여 alcohol 투여군은 63.8 \pm 8.5 mg/dL로 15.2%의 증가를 보였으나 유의성은 없었다. 清肝解酒湯 투여군의 경우 51.6

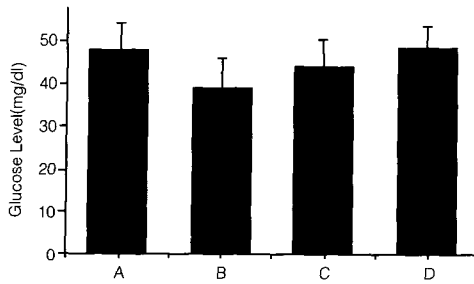


Fig. 3. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjiejiu-tang) on serum glucose levels in the rats.

A : Normal control group
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)+alcohol treated group

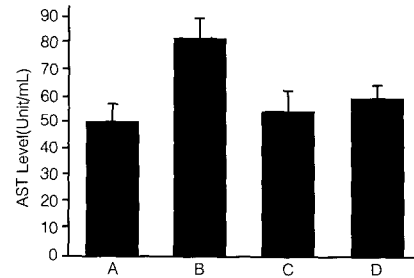


Fig. 5. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjiejiu-tang) on serum AST levels in the rats.

A : Normal control group,
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)+Alcohol treated group

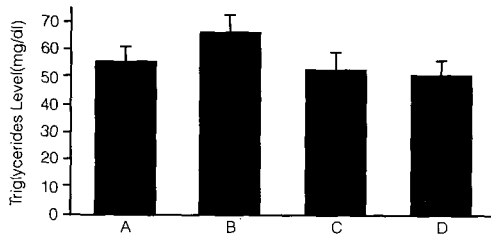


Fig. 4. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjiejiu-tang) on serum triglyceride levels in the rats.

A : Normal control group
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjiejiu-tang)+alcohol treated group

±7.8 mg/dL로 약간의 감소를 보여주었으나 유의성은 없었다. Alcohol 투여군과 淸肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 淸肝解酒湯+alcohol 투여군은 51.8±4.2 mg/dL로 유의성 있는(P<0.01) 하강을 나타내어 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 triglyceride의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다(Fig. 4).

3) Blood urea nitrogen에 대한 효과

淸肝解酒湯이 혈액 중 urea nitrogen level에 미치는 영향은 정상군의 blood urea nitrogen 량인 25.5±2.4 mg/dL에 비하여 alcohol 투여군은 40.9±1.8 mg/dL로 60%의 유의한(P<0.001) 증가를 보였다. 淸肝解酒湯 투여군의 경우 29.1±1.6 mg/dL로 유의성(P<0.01)이 있었다. Alcohol 투여군과 淸肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 淸肝解酒湯+alcohol 투여군은 26.9±2.2 mg/dL로 유의성(P<0.001) 있는 하강을 나타내어 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 blood urea nitrogen의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다.

3. 알코올로 유발된 간세포손상에 미치는 영향

1) AST에 미치는 효과

淸肝解酒湯이 혈액 중 AST level에 미치는 영향은 정상군의 AST 량인 50.2±6.4 unit에 비하여 alcohol 투여군은 81.7±7.3 unit로 62.7%의 유의한(P<0.001) 활성의 증가를 보였다. 淸肝解酒湯 투여군의 경우 55.3±7.1 unit로 약간의 증가를 보여주었으나 유의성이 없음이 관찰되었다. alcohol 투여군과 淸肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 淸肝解酒湯+alcohol 투여군은 59.6±5.4 unit로 유의성(P<0.001) 있는 하강을 나타내어 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 AST의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다(Fig. 5).

2) ALT에 미치는 효과

淸肝解酒湯의 유무와 알코올의 유무가 혈액 중 ALT level에 미치는 영향은 정상군의 ALT 량인 14.7±1.9 unit에 비하여 alcohol 투여군은 28.5±4.4 unit로 93.9%의 유의한(P<0.001) 활성 증가를 보였다. 淸肝解酒湯 투여군의 경우 15.7±3.0 unit로 약간의 증가를 보여주었으나 유의성이 없었다. Alcohol 투여군과 淸肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 淸肝解酒湯+alcohol 투여군은 19.6±3.2 unit로 유의성(P<0.005) 있는 하강을 나타내어 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 ALT의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다(Fig. 6).

3) Alkaline phosphatase에 미치는 영향

淸肝解酒湯이 혈액 중 alkaline phosphatase level에 미치는 영향은 정상군의 alkaline phosphatase 량인 2.10±0.53 unit에 비하여 alcohol 투여군은 3.81±0.72 unit로 81.4%의 유의한(P<0.001) 활성 증가를 보였다. 淸肝解酒湯 투여군의 경우 2.42±0.45 unit로 약간의 증가를 보여주었으나 유의성이 없었다. Alcohol 투여군과 淸肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 淸肝

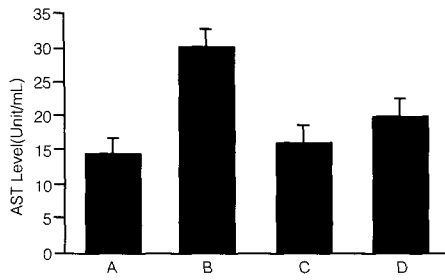


Fig. 6. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjieju-tang) on serum ALT levels in the rats.

A : Normal control group
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang)+alcohol treated group

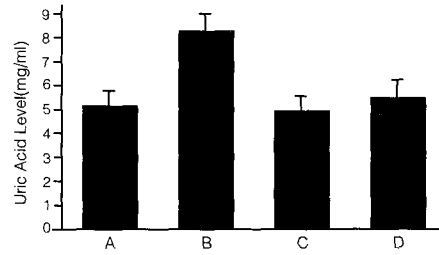


Fig. 8. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjieju-tang) on serum uric acid levels in the rats.

A : Normal control group
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang)+alcohol treated group

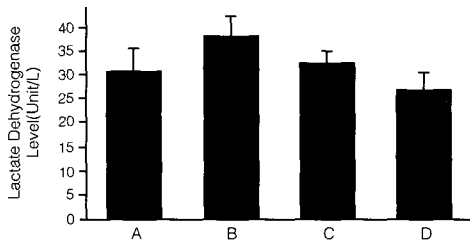


Fig. 7. The effect of Chungganhaeju-tang (Qingganjieju-tang) on serum lactate dehydrogenase levels in the rats.

A : Normal control group
 B : Alcohol treated group
 C : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang) treated group
 D : Chungganhaeju-tang(Qingganjieju-tang)+alcohol treated group

解酒湯+alcohol 투여군은 2.63 ± 0.36 unit로 유의성 ($P < 0.005$) 있는 하강을 나타내어 清肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 alkaline phosphatase의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다.

4) Lactate dehydrogenase에 미치는 효과

清肝解酒湯이 혈액 중 lactate dehydrogenase level에 미치는 영향은 정상군의 lactate dehydrogenase 량인 31.0 ± 4.8 unit/L에 비하여 alcohol 투여군은 38.2 ± 4.3 unit/L로 23.2%의 유의한 ($P < 0.05$) 활성 증가를 보였다. 清肝解酒湯 투여군의 경우 32.8 ± 2.4 unit/L로 약간의 증가를 보여주었으나 유의성이 없었다. Alcohol 투여군과 清肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 清肝解酒湯+alcohol 투여군은 27.2 ± 3.8 unit/L로 유의성 ($P < 0.001$) 있는 하강을 나타내어 清肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 lactate dehydrogenase의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다(Fig. 7).

5) Uric acid에 미치는 효과

清肝解酒湯이 혈액 중 uric acid level에 미치는 영향은

정상군의 uric acid 량인 5.12 ± 0.69 mg/dL에 비하여 alcohol 투여군은 8.2 ± 0.75 mg/dL로 60.2%의 유의한 ($P < 0.001$) 활성 증가를 보였다. 清肝解酒湯 투여군의 경우 4.89 ± 0.66 mg/dL로 약간의 하강을 보여 주었으나 유의성이 없었다. Alcohol 투여군과 清肝解酒湯+alcohol 투여군의 비교에서 alcohol 투여군에 비해 清肝解酒湯+alcohol 투여군은 5.33 ± 0.85 mg/dL로 유의성 ($P < 0.001$) 있는 하강을 나타내어 清肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 uric acid의 대사를 회복하는 효과가 있음이 관찰되었다 (Fig. 8).

고 찰

우리나라의 알코올 소비량은 생활양식의 서구화와 더불어 점차 증가하는 추세에 있으며 최근에는 여성 음주자의 증가와 음주 연령의 연소화 경향에 따라 점차 사회 문제시되고 있다^{1-2,17-24}). 이는 간질환의 양상에 있어서도 바이러스성 간질환에 비해 상대적으로 지방간, 알코올성 간염, 알코올성 간경변증 등 알코올성 간질환이 증가하고 있다는 보고²⁾와 매우 밀접한 관련이 있다. 따라서 음주로 인한 피해는 장차 우리 사회에 중대한 문제로 대두될 것으로 예견되며 이에 대한 대책도 시급한 실정이다¹⁾.

한의학에서는 음주로 인한 內傷을 酒傷이라 하며, 이에 관한 기록은 內經에서부터 찾아볼 수 있는데, 《靈樞·論勇篇》⁴⁾에서는 酒氣가 慄悍한데 飲酒하면 氣가 上逆하여 胸中에 充滿하여 肝浮膽橫하고 그 常性을 잃고 酒悖가 된다고 하였고, 《素問·厥論篇》⁵⁾에서는 醉飽入房하면 氣가 胸中에 쌓여 흠어지지 않고 酒氣와 穀氣가 相搏하여 中焦 盛熱하게 되므로 全身에 熱이 퍼지고 內熱이 생겨 尿赤한다고 하였다.

이후 張⁶⁾은 과음으로 인한 黃疸을 酒疸로 기술하였으

며, 巢²⁾는 酒疸, 酒癖에 대해 언급하고 臟器의 虛實에 따른 변화를 관찰하였다. 李²⁵⁾은 酒傷病에 대하여 無形之氣說을 주장하였고 그 치료에 있어서 瀉下시키게 되면 絶命하거나 虛損病이 생기게 되므로 治法은 發散汗出하고 다음으로 利小便하여 그 濕을 上下로 分消하는 것을 原則으로 하였다.

淸肝解酒湯은 酒傷에 대표적인 처방으로 활용되고 있는 對金飮子에 茵蔯四苓散을 合方하고 解酒毒의 要藥인 葛根, 赤楊 등을 가미하여 구성된 방제이다.

淸肝解酒湯을 구성하는 약물과 관련된 실험적 연구로 柳²⁶⁾는 ethanol로 인한 酒傷病에 加味對金飮子が 肝機能회복에 유의성이 있음을 보고하였고, 金²⁶⁾도 加味對金飮子が 알코올로 인한 損傷肝회복에 효과가 있음을 보고하였다.

茵蔯四苓散과 관련된 실험적 연구로 禹²⁶⁾가 茵蔯五苓散과 茵蔯增量한 構成方이 흰쥐 損傷肝에 미치는 영향을 보고하였고, 李²⁷⁾는 간보호작용과 이담작용 및 지질강화작용 등의 효능이 있음을 보고하였다. 朴²⁸⁾은 알코올로 유발된 흰쥐의 간손상으로 인한 지질대사, 당질대사, 단백질대사의 이상으로 인한 혈중 葡萄糖, triglyceride, BUN 함량의 증가에 대해 모두 유의한 억제효과를 보고하였다.

葛根에 대한 논문으로 禹²⁸⁾는 葛根이 CCl₄, d-galactosamine 및 알코올중독에 의해 유발된 흰쥐의 간손상에 유의성 있는 효과가 있음을 보고하였다. 葛根 성분 중 daidzin이 사람의 mitochondria에 있는 ALDH를 선택적으로 억제하며, 또한 다른 성분인 daidzein과 genistein이 ADH를 억제한다고 하였다²⁹⁻³⁰⁾. 그러나 Keung과 Vallee²⁹⁾는 daidzin과 daidzein이 알코올과 acetaldehyde 대사에 전반적인 영향이 없어 전형적으로 ALDH를 차단하는 disulfiram과는 다른 기전으로 飲酒 감소를 일으킬 것이라고 시사하였다. ADH의 활성을 억제하는 물질인 4-Methylpyrazole은 알코올에 의한 장기의 손상을 완화시키는 효과가 있다고 보고된 바 있다³⁰⁾.

赤楊³¹⁾은 味가 苦澁하며 氣가 凉하고 淸熱降火의 작용을 하므로 숙취와 알코올중독 등에 민간에서 많이 활용되고 있는 약재이다. 이와 관련된 연구로 裴³²⁾는 赤楊이 실험적으로 유발된 쥐의 손상간에 대해 간보호작용이 있음을, 洪³³⁾은 赤楊生肝湯이 알코올성 손상간의 개선효과와 혈중 알코올 농도의 증가를 유의성있게 감소시켰다고 보고하였다.

알코올의 대부분은 간세포에서 일정한 속도로 분해되어 acetaldehyde가 되는데 알코올 분해 효소인 ADH(alcohol dehydrogenase)와 미소체 에탄올 산화계인 MEOS(microsomal ethanol oxidation system), catalase 등 세 종류가 관여한다. 보통의 경우 ADH가 90% 정도를 담당하며, catalase에 의한 대사는 무시해도 좋다고 한다.

다시 acetaldehyde는 ALDH(aldehyde dehydrogenase)에 의해 acetate로 대사된다. 알코올이 acetaldehyde, acetate로 산화되는 과정에서 조효소 NAD⁺가 환원형인 NADH로 변환되어 그 양이 증가하게 되는데, 간세포의 알코올 분해 능력을 초과한 알코올을 섭취하면 NADH/NAD⁺비가 크게 증가하며, 생성되는 NADH와 acetaldehyde를 처리하기 위해 간내 대사과정이 한 방향으로만 계속됨으로써 지방산 산화가 억제되어 지방이 축적되며, lactic acid 생성 증가, 요산 생성 증가, ketoacidosis, 당대사장애 등이 나타나게 된다. 또한 대사과정이 한 방향으로만 진행됨으로써 간내 저산소증 상태가 발생되고 특히 세정맥 주위 저산소증(perivenular hypoxia)이 심하게 발생된다. ADH가 분해할 수 있는 양을 초과한 알코올 섭취 후에는 MEOS가 활성화되어 toxic free radical을 만들게 되고, 처리되지 못한 중간 대사 산물인 acetaldehyde는 지방의 과산화(peroxidation) 촉진, 소정맥주위 공간에 교원질(collagen)형성의 증가와 미토콘드리아 호흡의 억제, 비타민B6 대사의 변화, 여러 간세포내 단백질과의 acetaldehyde protein adduct를 형성, 간의 심각한 기능 및 구조장애를 초래하게 되며, 또한 독소나 약제에 의한 간손상의 감수성이 증가하게 된다^{34,35)}.

과거에는 알코올성 간질환은 주로 동반된 영양결핍에 의하여 발생된다고 생각했으나, 동물실험에서 영양소를 잘 공급해준 상태에서 만성적으로 알코올을 주어도 지방간, 간경변증, 간섬유화가 발생하는 것이 알려져 현재는 알코올 자체의 독성에 의한 손상, 또는 알코올 대사 과정에서의 손상이 간질환이 발생하는데 중요하다고 생각하고 있다³⁶⁾.

알코올 대사에 관계된 효소의 경우, 간손상의 지표와 밀접한 연관을 가지기도 한다. 특히 최근에 class I ADH의 활성도는 ALP(alkaline phosphatase)와, class II ADH의 활성도는 ALT(alanine aminotransferase)와 밀접한 연관이 있다고 발표된 바가 있다^{30,32)}. Alcohol의 농도는 acetaldehyde로 산화시키는 과정에서 진행되는 NADH의 생성량을 조사함으로써 alcohol의 농도를 측정하게 된다³³⁾.

본 연구에서는 淸肝解酒湯의 알코올 대사효소에 관한 저해 효과를 조사한 결과, ADH(alcohol dehydrogenase) 효소활성은 淸肝解酒湯이 부재할 경우 1.65 mUnit/ml의 활성을 보였으며 淸肝解酒湯 투여군(20μg/ml)에서는 0.363 mUnit/ml로 78%의 감소효과를 나타내었다. 이는 淸肝解酒湯이 ADH의 강력한 저해물질을 함유하고 있다는 것을 의미하며, 체내에서 알코올의 분해를 지연시킬 것이라는 것을 시사한다. ALDH(aldehyde dehydrogenase) 효소활성은 淸肝解酒湯이 부재할 경우 2.52 mUnit/ml의 활성을 보였으며, 淸肝解酒湯투여군(20 μ

g/ml)에서는 2.39 mUnit/ml로 나타나 초기의 값과 유사함을 보여주었다. 이는 淸肝解酒湯이 ALDH의 저해효과에는 커다란 영향을 미치지 않는 것으로 생각되며, 따라서 체내에서 acetaldehyde 분해에는 직접 영향을 미치지 않은 것을 의미한다. 淸肝解酒湯이 ADH에 미치는 저해효과(acetaldehyde의 생성속도 지연)와 이의 ALDH에 미치는 영향의 미미함을 종합하면, 淸肝解酒湯이 체내의 acetaldehyde의 농도를 감소시키는데 기여함을 보여주고 있다.

ADH의 활성 측정에 사용된 NAD의 농도(7.5mM)에서 淸肝解酒湯이 ALDH에 대해 약 675 μ g/ml의 淸肝解酒湯이 필요함을 알 수 있고 이는 ADH의 경우(12 μ g/ml)와 비교하면 약 56배 가량 ALDH의 활성에 관해 저해효과가 떨어짐을 보여준다.

淸肝解酒湯이 알코올에 의한 간세포 손상에 미치는 영향을 살펴본 결과, 정상군과 알코올 투여군의 비교에서 AST, ALT, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, uric acid 모두 유의성 있는 증가를 나타내었다. 알코올 투여군과 淸肝解酒湯 + 알코올 투여군의 비교에서는 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 손상된 AST, ALT, alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase, uric acid level를 모두 유의성있게 회복하였다.

본 연구결과에서 보여준 淸肝解酒湯의 alcohol dehydrogenase 활성저해 효능은 淸肝解酒湯이 알코올에 의해 증가된 NADH/NAD⁺의 비율과 acetaldehyde의 농도를 뚜렷하게 감소시킬 수 있음을 의미한다. 이는 淸肝解酒湯이 알코올로 유발된 간대사 기능 장애와 간세포 손상에서 간의 회복 작용을 보여준 결과와 부합된다.

ADH의 활성은 설치류의 경우 알코올 대사의 속도를 조절하는 중요한 효소이며, 이의 조절은 4-methylpyrazole의 경우에서와 같이 알코올에 의한 간 손상이나 변화된 대사를 정상으로 전환시키는 효과가 있다. 따라서 淸肝解酒湯이 ADH 활성을 강력히 저해시킨 본 연구의 결과를 볼 때 淸肝解酒湯의 간보호 기능의 기전에는 간기능 회복 뿐 아니라 acetaldehyde생성 억제작용이 관여하고 있는 것으로 사료된다.

결론

淸肝解酒湯이 알코올대사와 간기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 ADH, ALDH의 활성도와 혈중 glucose, triglyceride, BUN을 측정하고, 알코올로 유발된 손상간세포에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈중 AST, ALT, ALP, LDH 및 uric acid를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 淸肝解酒湯은 알코올 대사효소중 acetaldehyde 생성

효소인 ADH의 활성을 뚜렷이 억제하였으나, acetaldehyde 분해효소인 ALDH의 활성도에는 상대적으로 영향을 미치지 않았다.

2. 淸肝解酒湯은 알코올로 인하여 감소된 혈중 glucose를 회복시키고 증가된 triglyceride 및 BUN을 유의성 있게 감소시켰다.
3. 淸肝解酒湯은 알코올에 의하여 증가된 혈중 AST, ALT, ALP, LDH 및 uric acid를 유의성있게 감소시켰다.

이상에서 淸肝解酒湯은 알코올 대사과정에서 acetaldehyde의 생성을 억제하고, 알코올에 의해 저하된 간기능을 회복시키는 작용이 있어 임상에서 각종 알코올성 간질환에 다양하게 사용할 수 있는 근거를 마련한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 통계청. 한국의 사회지표. 1996:254-256.
2. 통계청. 사망원인통계. 1997:5-7, 11-15.
3. 김병운, 우홍정, 김덕호, 강병기, 임재훈, 강윤희, 조종관, 최서영, 장문석. 간계내과학. 서울:동양의학연구원. 1992:94, 109-111, 197, 245, 598-599.
4. 洪元植 校合. 精校黃帝內經靈樞. 서울:東洋醫學研究院. 1985:233.
5. 洪元植 校合. 精校黃帝內經素問. 서울:東洋醫學研究院. 1985:17, 169.
6. 張仲景. 金匱要略. 서울:杏林書院. 1978: 74-76, 119-120, 392-394, 438.
7. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 北京:人民衛生出版社. 1983:395-397, 598, 619-620, 750-753, 768-769.
8. 서울대학교 의과대학 내과학교실. 최신지견 내과학 II. 서울:군자출판사. 1998:18-27.
9. 류기원, 구분홍. 酒傷病에 응용되는 加味對金飲子가 Ethanol로 인한 白鼠의 간손상에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1980;3:1-14.
10. 김영철, 우홍정, 김병운. 加味對金飲子の 효능에 대한 실험적 연구. 경희한의대논문집. 1993;16:7-29.
11. 박형규, 김동우, 이장훈, 우홍정, 김병운. 茵陳四苓散이 급성 Alcohol, 고지방식 및 Galactosamine중독 白鼠의 간손상에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1993;14:254-269.
12. 우홍정. 葛花解醒湯이 Ethanol 중독 흰쥐의 간기능에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1984;7:87-108.
13. 배현수, 우홍정, 김덕호, 김병운. 赤楊의 독성 및 간장애에 미치는 영향. 동양의학. 1991;17:16-21.
14. 홍미숙, 김동우, 이장훈, 우홍정, 김병운. 赤楊生肝湯이 알코올성 간손상에 미치는 효과. 경희대학교 논문집. 1991;15:169-201.
15. 경희의료원. 한약규격집. 서울:대성문화사. 1993:14-17,

- 73-75, 98-100, 179, 185-186, 253-254.
16. Bucolo G, David H. Quantitative Determination of Serum Triglycerides by the Use of Enzymes. *Clin. Chem.* 1973;19:476.
 17. 홍세용, 양승하, 김의한. 한국인 만성 음주자 40례에 대한 간조직학적 고찰. *대한내과학회잡지.* 1985;29:243-249.
 18. 홍성원. 알코올중독환자에 관한 임상적 고찰. *경희대학교 대학원.* 1990.
 19. 이영상. 알콜과 간. 김원동. *내과학의 최신지견 II.* 서울:한국의학, 1998: 143-155.
 20. 이영호. 알코올장애자에 대한 임상적 연구. *신경정신의학.* 1980;19:2.
 21. 김남동, 권상옥, 김현수, 이동기, 배선우, 장우익, 김호근, 박찬일. 알콜성 간질환의 임상적 고찰. *대한내과학회잡지.* 1992;43:161-168.
 22. 김정수, 한상익, 김광수. 주정중독의 재발에 대한 임상변인들의 영향. *신경정신의학.* 1994;33:817-824.
 23. 방창덕. 만성 음주증의 소화기 급성 간질환. *인간과학.* 1982;6:1-9.
 24. 오병훈. Mesoridazine이 가토 혈중 주정농도에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. *신경정신의학.* 1980;19:154-160.
 25. 李東垣. 東垣十種醫書. 서울:大星文化社. 1983:56-57, 119, 161, 491.
 26. 우홍정. 茵陳五苓散과 茵陳중량한 구성방이 흰쥐 손상간에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 1992;13:234-241.
 27. 이장훈. 간질환치료제의 효능에 관한 실험적 연구. 제2회 韓·中 학술대회 참가논문집(간장편). 1995: 123-163.
 28. 우홍정, 이장훈, 김영철. 茵陳과 葛根이 d-galactosamine, 급성 alcohol 중독 및 CCl₄ 중독 백서의 간손상에 미치는 영향. *대한한의학회지.* 1997;18:412-426.
 29. Keung WM, Vallee BL. Daidzin and dzidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian golden hamsters. *Soc USA. Proc Natl Acad.* 1993;90:21.
 30. Keung WM, Vallee BL. Daidzin. A potent, selective inhibitor of human mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Soc USA. Proc Natl Acad.* 1993;90:4.
 31. 문화방송. 한국민간요법대전. 서울:문화방송. 1987:29-30.
 32. Chrostek L, Szmikowski M. Human Alcohol dehydrogenase isoenzyme activity in the sera of non-alcoholic liver cirrhotic patients. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1996;34:801-804.
 33. Jones D, Gerber LP, Drell W. A rapid enzymatic method for estimating ethanol in body fluids. *Clin Chem.* 1970;16:402.