

한약재 조성물이 흰쥐의 알코올성 숙취 및 사염화탄소 유발 간 손상에 미치는 영향

양동식¹ · 홍성길¹ · 최선미¹ · 김복남² · 성현제³ · 윤유식^{1*}

¹한국한의학연구원 의료연구부

²장백산간신약물연구소

³세명대학교 한의과대학

Effect of an Oriental Herbal Composition, Jang Baek Union (JBU), on Alcohol-Induced Hangover and CCl₄-Induced Liver Injury in Rats

Dong-Sik Yang¹, Seong-Gil Hong¹, Sun-Mi Choi¹, Bok-Nam Kim²,
Hyun-Jea Sung³ and Yoosik Yoon^{1*}

¹Dept. of Medical R&D, Korea Institute of Oriental Medicine, Seoul 135-100, Korea

²Yanbian Minzu Yiyao Yanjiusuo, Yanjishi Henanjie 7 hao Jilinsheng, China

³School of Oriental Medicine, Semyung University, Chungbuk 390-711, Korea

Abstract

Effects of the extract of oriental herbal composition, Jang Baek Union (JBU), on hangover and liver function were studied in rats. To investigate anti-hangover effect, alcohol concentration and acetaldehyde concentration of blood were measured after oral ethanol treatment. Blood alcohol concentration was significantly reduced by pre-treatment of JBU extract. The effect of JBU extract on the blood acetaldehyde concentration was more significant than commercial product used as a positive control. To investigate hepato-protective effect, serum GOT and GPT levels and histological changes of liver tissue were analyzed in CCl₄-treated rats. JBU extract administration significantly inhibited the increase of serum GPT and GOT levels induced by CCl₄-treatment. Moreover, histological injuries of liver tissue such as fatty changes and sinusoidal leukocytosis were inhibited by JBU extract.

Key words: ethanol, acetaldehyde, hangover, hepato-protective, CCl₄

서 론

알코올은 현대인의 스트레스 해소를 위하여 소비가 급증하고 있는 추세지만 급성 알코올성 숙취로 인한 메스꺼움, 구토, 현기증, 갈증, 무기력, 두통, 근육통 등의 증상은 업무능률 저하로 인한 사회경제적 손해를 초래하고 있으며(1), 만성적인 알코올 섭취 시에는 췌장염, 심근경색, 신경 장애, 결핵 등의 장애가 나타나고 심하면 간조직의 구조 및 기능에 치명적인 손상을 가져오게 된다(2,3). 알코올은 섭취 시 체내에 흡수되어 전신에 고루 분포되며, 대부분은 간에서 alcohol dehydrogenase(ADH), acetaldehyde dehydrogenase(ALDH), endoplasmic reticulum 내의 알코올 산화계(microsomal ethanol oxidizing system; MEOS), catalase 및 peroxidase 등의 특정한 효소들에 의해서 대사되고 흡수된 알코올의 10% 미만의 대사가 되지 않은 채 신장이나 폐를 통하여 배설된다. 체내의 다른 장기에 비하여 알코올이 간에 미치는 영향은 매

우 크다고 볼 수 있다(4-7). 따라서 알코올성 간 손상을 억제하고 간의 기능을 회복시켜주는 기능성 소재의 연구개발이 필요하다.

본 연구에서는 한국과 중국의 전통의학 연구자들이 각각의 축적된 전통의료 경험을 바탕으로 공통된 의견을 모아 알코올성 간 손상의 개선을 위한 조성물 JBU(Jang-Baek Union)을 구성하고 실험동물을 활용한 기능성 평가를 수행하였다. JBU는 갈화, 지구자, 인진, 수비계, 백출, 복령, 진피, 구기자, 홍삼, 황기의 10가지 한약재로 구성되었다. 동양의학에서 갈화 및 지구자는 알코올 해독작용을 하여 알코올로 인한 간의 손상을 치료하고, 과음으로 인한 가슴의 번열감, 구갈, 구토, 대소변 불리 및 신물을 토하는 증상을 치료하는데 이용하여 왔다. 인진과 수비계는 간기능을 향상시키고 담즙 분비를 증가시키는 효능이 있고, 백출, 복령 및 진피는 불필요한 체내 수분을 제거하고 비위를 보하는 효능이 있으며 구기자는 폐, 비장, 간 및 신장을 윤택하게 한다고 알려져 있다.

*Corresponding author. E-mail: ysyoon@kiom.re.kr
Phone: 82-2-3442-1994(#207), Fax: 82-2-3447-1994

홍삼은 대보원기 및 갈증제거 작용을 하고, 황기도 또한 보위 작용을 한다(8). 따라서 이들 한약재로 구성된 JBU는 주독을 풀어주고, 위장과 간을 보하며 기운을 북돋우는 작용이 있으므로 음주로 유발된 숙취 증상을 완화시키고 다량의 만성적인 알코올 섭취로 인한 간기능 손상과 위장장애 등을 효과적으로 예방 및 치료할 수 있을 것으로 추정된다.

본 연구에서는 JBU 추출물을 시료로 에탄올 경구투여 시 혈중 알코올 농도와 아세트알데히드 농도에 미치는 영향을 관찰하고 사염화탄소로 유발된 간손상에 미치는 보호효과를 혈액생화학적 및 조직학적으로 관찰하여 숙취개선 및 간기능 개선 효능을 검증하였다.

재료 및 방법

조성물의 추출

실험에 사용된 한약재 조성(JBU)의 구성은 Table 1과 같고 다음과 같은 방법으로 추출하였다. 진피, 인진, 갈화, 지구자, 백출, 저령, 복령, 구기자를 배합하여 80~100°C의 온도로 16시간 이상 열수 추출한 후, 60°C 온도에서 감압 농축을 하였다. 농축액에 홍삼추출액과 수비계를 첨가한 후 혼합하여 최종 추출물을 제조하였다. 최종추출물의 고형분 함량은 11.0%이었다.

실험동물 및 실험설계

생후 6주령의 수컷 Sprague-Dawley(SD) 흰쥐를 대한바이오링크(음성, 한국)에서 구입하여 1주일간 고형배합사료(삼양배합사료)와 물로 예비 사육시킨 후에 2가지 모델로 실험을 수행하였다. 첫 번째는 JBU 추출물의 알코올성 숙취에 미치는 영향을 알아보기 위하여 알코올 섭취 후 시간경과에 따른 혈중 알코올 농도와 혈중 아세트알데히드 농도를 측정하였다. 동물실험은 증류수를 투여한 대조군과 JBU 추출물(고형분함량 11.0%)을 1 mL/kg과 2 mL/kg씩 투여한 실험군 그리고 시중에 상용되고 있는 미강추출물을 주원료로 한 C사의 숙취해소음료를 6.25 mL/kg로 투여한 양성대조군(PC; positive control)군의 4군으로 군당 10마리씩 나누어 수행되었다. JBU 추출물의 투여량 설정은 임상경험에 근거한 인간

에서의 용량인 60 mL/day를 인간의 평균체중(60 kg)으로 나누어 선정되었다. 양성대조군의 투여량은 본 제품의 1회 복용량 75 mL을 60 kg으로 나눈 양 1.25 mL/kg을 5배하여 설정하였다.

각 군에 대하여 시료를 1회 경구투여하고, 30분 경과한 다음 50% ethanol(4 g/kg)을 경구투여하였다. 이 후 1, 3, 5, 7시간 후에 혈액 중 알코올 농도를 측정하고 3시간 후에 아세트알데히드 농도를 측정하였다.

두 번째 실험모델로 JBU의 간손상 보호효과를 알아보기 위하여 7마리씩 4군으로 나누어, 음성 대조군과 정상 대조군에는 증류수를, JBU 투여군에는 JBU 추출물 5 mL/kg을 양성대조군(PC)에는 기존시판제품 6.25 mL/kg을 7일간 경구투여 하였다. 최종 투여 3시간 후에 사염화탄소를 olive oil에 0.45 mL/10 mL로 희석한 후 체중 100 g 당 1 mL씩 복강주사하였다(0.45 mL/kg). 이후 시간 경과별로 혈청의 GPT, GOT를 측정하였다.

동물사육의 환경은 온도 23±1°C, 습도 50±5%로 조정하였고, 12시간 명암주기를 유지하였다.

혈중 알코올 농도 측정

알코올 투여 후 1, 3, 5, 7시간 후에 흰쥐의 미정맥에서 채취한 혈액을 EDTA를 처리하여 응고를 억제하였다. 알코올 농도 측정은 알코올 측정 kit(#332-UV, Sigma, USA)를 사용하였다. 진혈 0.2 mL에 1.8 mL의 trichloroacetic acid를 첨가하여 서서히 혼합하고 실온에서 5분 동안 방치하였다. 2,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하고 상층액을 분리하였다. 0.1 mL의 상층액과 2.9 mL의 NAD-ADH 용액을 혼합하고 실온에서 10분간 방치한 후 파장 340 nm에서 흡광도를 측정하였다(9).

혈중 아세트알데히드 농도 측정

Penton의 방법(10)을 변경하여 gas-chromatography(Shimadzu GC-RIA)로 분석하였으며 기기분석 조건은 column : 15% PEGS chromosorb WAW, 15×0.53 mm, FID detector temp. 150°C, flow rate(carrier gas) 50 mL/min(N₂), column temp. 130°C이었다.

GPT와 GOT 활성 측정

Retiman-Frankel법을 이용한 영동제약(주)의 GPT와 GOT 활성 측정용 kit를 이용하여 측정하였다(11).

병리조직학적 관찰

사염화탄소를 투여한 흰쥐의 간조직을 육안적으로 관찰한 후 10% formalin액에 고정하였다. 이들 고정된 조직은 통상 방법에 따라 파라핀 포매과정을 거쳐 조직절편을 만들어 H&E염색(12)을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

통계

모든 data는 평균±표준오차로 나타내었으며, 통계분석은 대조군에 대하여 Student's t-test를 행하였다.

Table 1. Composition of JBU

Component	Amount (g) in 60 mL	Ratio (%)
<i>Artemisia capillaris</i>	15.0	27.1
<i>Pueraria thunbergiana</i>	9.0	16.2
<i>Hovenia dulcis</i>	9.0	16.2
<i>Artractylodes macrocephala</i>	4.0	7.2
<i>Polyporus umbellatus</i>	4.0	7.2
<i>Poria cocos</i>	4.0	7.2
<i>Citrus unshiu</i>	4.0	7.2
<i>Lycium chinense</i>	4.0	7.2
<i>Panax ginseng</i>	2.0	3.6
<i>Silybum maxianum</i>	0.39	0.7

결과 및 고찰

숙취제거 효능

알코올과 그 일차 대사산물인 아세트알데히드는 사람에게 숙취를 경험하게 하는 주원인 물질로 알려져 있다(13). 따라서 JBU의 숙취개선 효능을 확인하기 위하여 혈중 알코올 농도와 혈중 아세트알데히드 농도를 측정하였다.

혈중 알코올 농도는 음주 후 60~90분 사이에 최고치를 나타낸다는 보고(14)와 같이 대조군의 경우 1시간만에 혈중 알코올농도가 최고치에 도달하였다(Fig. 1). 알코올 섭취 30분 전 JBU 추출물을 복용시킨 경우에는 혈중 알코올 농도가 대조군에 비하여 50% 정도의 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$). 시간 경과에 따라 JBU 추출물 1 mL/kg 처리군은 대조군에 비해 3시간에 57%, 5시간에 59%, 7시간에 68%만큼 감소하였고, JBU 추출물 2 mL/kg 처리군은 3시간에 70%, 5시간에 82%, 7시간에 90%로 유의적인 혈중 알코올 농도 감소를 보였다($p < 0.05$). 양성대조군(PC: positive control)으로는 현재 시판되고 있는 숙취개선음료를 사용하였는데, 알코올 섭취 후 1시간에서는 JBU 추출물 2 mL/kg 처리군이 PC 6.25 mL/kg 처리군보다 27%정도 우수한 효능을 보였고 그 이후의 시간대에는 두군 간에 뚜렷한 차이를 보이지 않았다.

혈중 아세트알데히드 농도를 측정한 결과 JBU 추출물 1 mL/kg 처리군, 2 mL/kg 처리군은 대조군에 비해 각각 75% ($p < 0.05$), 86%($p < 0.01$)의 유의적 감소 효과를 나타냈으며, 대조군에 비해 71%의 혈중 아세트알데히드 감소 효과를 보인 PC 6.25 mL/kg 처리군보다 더 효과적이었다(Fig. 2). Lieber는 알코올 섭취시 체내의 독성 작용의 원인으로 알코올 그 자체보다 일차 대사산물인 아세트알데히드에 의한

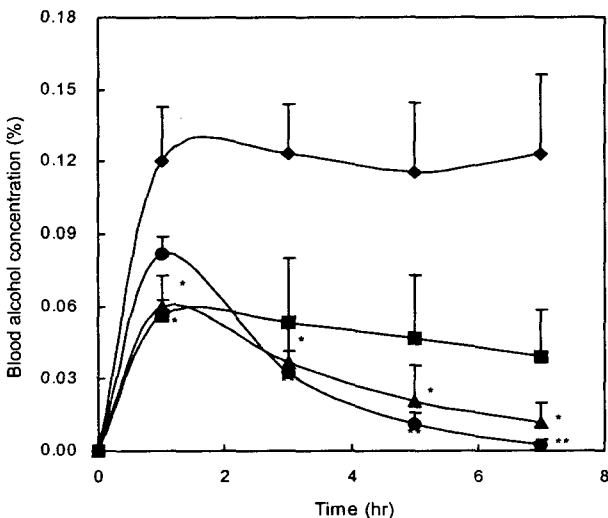


Fig. 1. Effect of JBU on blood alcohol concentration in ethanol-treated rats.

*, **Significantly different compared with control group at $*p < 0.05$ and $**p < 0.01$, respectively.

—●— Control, —■— JBU (1 mL/kg), —▲— JBU (2 mL/kg), —○— PC (6.25 mL/kg).

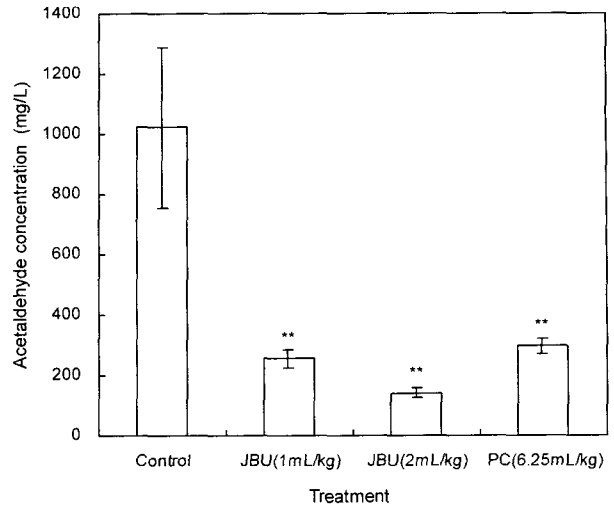


Fig. 2. Effect of JBU on blood acetaldehyde concentration in ethanol-treated rats.

**Significantly different compared with control group at $p < 0.01$.

영향이 크다고 보고하였다(15). 고반응성을 지닌 화합물인 아세트알데히드는 체내 주요 구성 성분인 단백질 등과 결합하여 물질 자체의 고유한 특성을 약화 또는 소거시키는 독성을 지닌 것으로 알려져 있다(13). 아세트알데히드에 의한 독성으로는 미토콘드리아의 기능저해로 인한 간염 및 간경변증, 아세트알데히드를 아세테이트로 대사시키는 효소인 아세트알데히드 탈수소효소의 활성도 감소, 비타민의 활성억제, 심장 및 근육단백질 합성 억제 등이 보고되어 있다(16). 또한 혈액내의 아세트알데히드가 과량인 경우에는 일부가 뇌를 비롯한 다른 장기로 이동하여 유해한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(17). 이와 같이 JBU는 숙취의 주요 원인으로 알려진 아세트알데히드의 농도를 감소시킴으로서 알코올 섭취 후 유쾌하지 못한 신체적, 정신적 증상을 제거할 것으로 생각된다.

간기능 개선 효능

사염화탄소는 생체 세포막내의 smooth endoplasmic reticulum의 복합산화기구에 의하여 reactive metabolite인 trichloromethyl free radical($\cdot CCl_3$)로 대사되거나 혹은 $\cdot CCl_3$ 가 O_2 와 반응하여 생성된 trichloromethylperoxy free radical($Cl_3COO\cdot$)로 산화되어 세포막의 polyunsaturated fatty acid를 과산화시킴으로써 간손상을 야기시키는 것으로 알려져 있다(18,19). 따라서 간손상 유발 동물모델로 잘 알려진 사염화탄소 투여법(20)에 의하여 급성 간손상을 유발시킨 후 혈청 GPT와 GOT 활성도를 측정하였고, 간조직의 변화를 H&E염색을 통하여 조직병리학적으로 관찰하여 JBU의 간기능 개선 효능을 검증하였다.

혈청 GPT와 GOT 효소 활성은 간손상으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 혈중으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것으로 간손상의 지표가 된다(21). 먼저 간손상 및 억제제의 시간별 변화를 관찰하

기 위하여 대조군과 JBU 추출물 처리군의 시간경과별 GPT와 GOT 활성도 변화추이를 관찰하였다(Fig. 3). GPT와 GOT 활성도로 나타나는 간손상도는 사염화탄소 처리후 24시간에 최고도에 이르고 48시간에는 감소하는 것으로 관찰되었다. JBU 처리군은 대조군에 비해 6시간에 GPT 활성도를 71%($p < 0.05$) 감소시켰으며 24시간에는 58%($p < 0.01$), 48시간에는 31%($p < 0.01$)의 유의적인 억제효과를 보였다. GOT의 활성도에서도 유사한 경향을 보였다. 사염화탄소 처리후 24시간에 간손상이 가장 뚜렷하였으므로 이 시점에서 JBU의 간손상억제 효능을 양성대조군인 PC투여군과 비교하였다(Fig. 4). 혈청 GPT 활성도에 있어서 JBU 추출물은 42% 유의적 감소효과($p < 0.05$)를 나타내어 24% 감소효과를 나타낸 PC투여에 비하여 우수한 효능을 나타내었다. 또한 혈청 GOT 활성도에 있어서 JBU 추출물은 28% 유의적 감소효과($p < 0.05$)를 나타내어 10% 감소를 나타낸 PC투여군에 비해 우수한 효능을 나타내었다. PC 투여군은 대조군에 비해 통계적으로 유의적인 감소효과를 보여주지 못하였다. 따라서 본 실험 결과는 한약재 조성물인 JBU투여군이 사염화탄소에 의해 증가된 혈청 GPT와 GOT 활성도를 감소시켜 간손상 억제효과가 있음을 제시하고 있다.

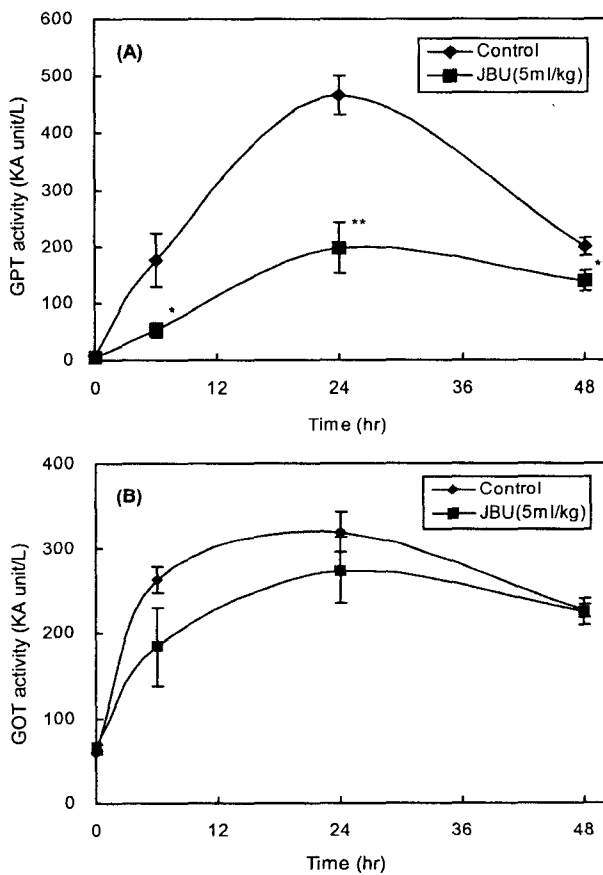


Fig. 3. Change of serum (A) GPT and (B) GOT activities in rat pre-treated with JBU after CCl₄ treatment. *, **Significantly different compared with control group at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

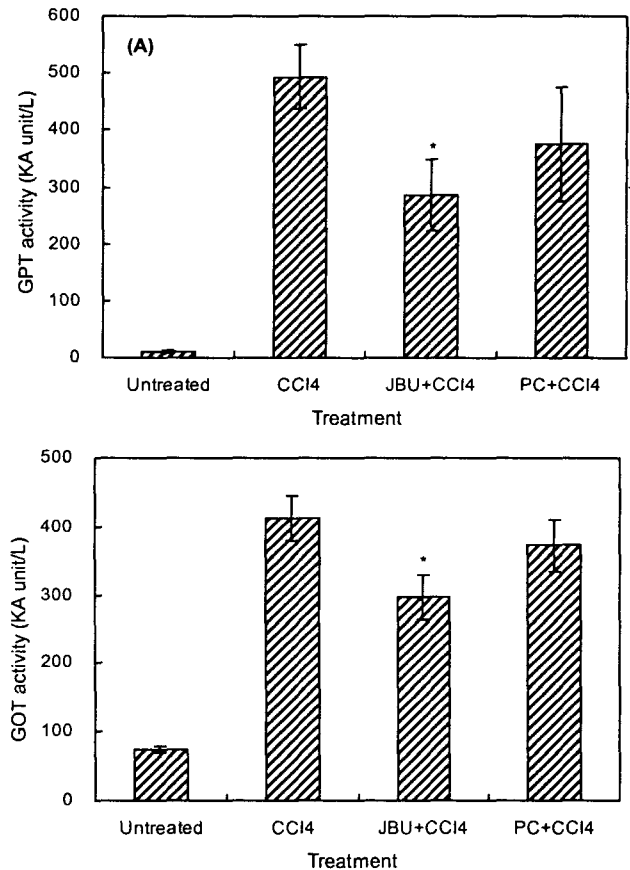


Fig. 4. Effects of JBU pre-treatment on serum (A) GPT and (B) GOT activities in rat at 24 hours after CCl₄ treatment. *Significantly different compared with control group at $p < 0.05$.

사염화탄소로 유발된 간손상에 미치는 JBU의 보호효과를 조직학적으로 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. 사염화탄소 처리

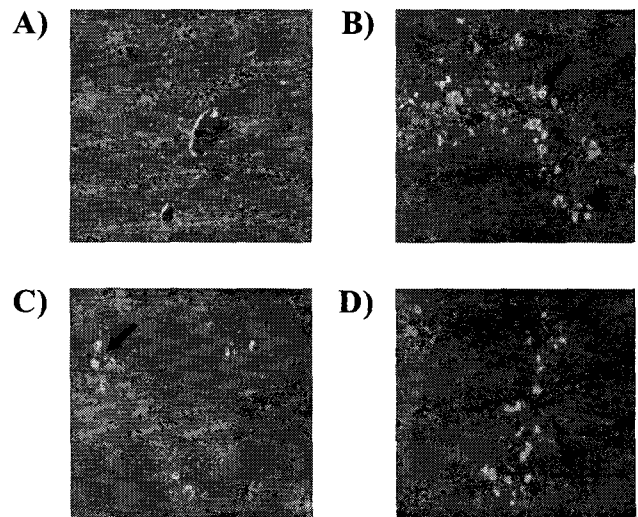


Fig. 5. Effects of JBU pre-treatment on histological changes of liver tissue at 24 hours after CCl₄ treatment. (A) normal group, (B) CCl₄ group, (C) JBU+CCl₄ group, (D) PC+CCl₄ group. Arrow indicates damaged portions. (H&E staining, ×100).

군은 무처리군에 비하여 고도의 지방변이(fatty changes)와 백혈구침투(sinusoidal leukocytosis)가 관찰되어 확연하게 간손상을 유발되었음이 관찰되었다. JBU 추출물 투여군에서는 지방변이 및 백혈구침투 증상이 크게 억제되었으나 PC 투여군의 경우에는 의미있는 억제효과를 보여주지 못하였다. 본 연구결과는 JBU가 간손상 억제 효능에 있어서 유의적으로 우수하며 습관적 과음, 약물과용 등의 원인으로 인한 간손상을 억제할 수 있는 기능성 소재로 활용될 수 있음을 제시하고 있다.

요 약

본 연구에서는 숙취제거 및 간기능 개선에 전통적으로 사용되어온 한약재로 구성된 조성물 JBU의 효능을 동물실험을 통하여 검증하였다. 숙취제거 효능을 확인하기 위하여 알코올과 그 대사산물인 아세트알데히드의 혈중 농도를 측정 한 결과, 혈중 알코올 농도에서 JBU 추출물 처리군은 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였고, 특히 숙취의 원인물질로 지목되는 아세트알데히드 감소에 있어서도 유의적인 효과를 보였다. 간기능개선 효능의 확인을 위하여서는 사염화탄소 유발 간손상 동물모델에서 GPT와 GOT의 활성도를 측정하여 간손상 정도를 확인하였고, 조직병리학적 관찰을 통하여 간의 병적 변화를 관찰하였다. 사염화탄소는 확연하게 간손상을 유발시켰고, JBU 추출물은 GPT 및 GOT의 증가를 유의적으로 억제하였으며 조직학적으로도 간조직의 손상을 뚜렷하게 억제하였다.

문 헌

1. Swift R, Davidson D. 1998. Alcohol hangover, mechanism and mediators. *Alcohol Health Res World* 22: 54-60.
2. Lieber CS, Leo MA. 1992. Alcohol and liver. In *Medical and nutritional complications of alcoholism: mechanism and management*. Lieber CS, ed. Plenum Medical Book Co., New York. p 185.
3. Lieber CS, Garro A, Leo MA, Mak KM, Wornor T. 1986. Alcohol and cancer. *Hepatology* 6: 1005-1019.
4. Goodman LS, Gilman A. 1975. *The pharmacological basis*

5. Lieber CS, Leo MA. 1986. *Progress in liver diseases*. Popper H, Schaffner F, eds. Grune and Stratton, New York, p 253.
6. Lieber CS. 1985. Alcohol and liver: metabolism of ethanol, metabolic effects and pathogenesis of injury. *Acta Med Scand* 703: 11-55.
7. Lieber CS, DeCarli LM. 1968. Ethanol oxidation by hepatic microsomes: adaptive increase after ethanol feeding. *Science* 162: 917-918.
8. Lee SI. 1998. *Herbology*. 1st ed. Young Lim Co., Seoul, Korea.
9. Poklis A, Mackell MA. 1982. Evaluation of a modified alcohol dehydrogenase assay for the determination of ethanol in blood. *Clin Chem* 28: 2125-2127.
10. Penton Z. 1987. Gas-chromatographic determination of ethanol in blood with 0.53 mm fused-silica open tubular columns. *Clin Chem* 33: 2094-2095.
11. Reitman S, Frankel S. 1957. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and pyruvic transaminase. *Amer J Clin Pathol* 28: 56-60.
12. Uchida T, Kao H, Zuispe-Sjogen M, Peters RL. 1983. Alcoholic foamy degeneration: a pattern of acute alcoholic injury of the liver. *Gastroenterology* 84: 683-692.
13. Kim CI. 1999. Cause and effect of hangover. *Food Indus Nutr* 4: 26-30
14. Shumate RP, Crowther RF, Zaraqafshan H. 1967. A study of the metabolism rates of alcohol in the human body. *J Forensic Med* 14: 83-100.
15. Lieber CS. 1973. Liver adaptation and injury in alcoholism. *N Eng J Med* 288: 356-362.
16. Kim KW, Yang JS, Lee JS, Cho YS, Kang SK, Chung HK. 1994. Activity of alcohol dehydrogenase and ethanol, acetaldehyde levels in normal adults blood. *Kor Ind Hyg Assoc J* 4: 240-247.
17. Helander A, Tottmar O. 1988. Effect of acute ethanol administration on human blood aldehyde dehydrogenase activity. *Alcohol Clin Exp Res* 12: 643-646.
18. Freeman BA, Crapo JD. 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47: 412-426.
19. Simon RH, Scoggin CM, Patterson D. 1981. Hydrogen peroxide causes the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J Biol Chem* 266: 7181-7186.
20. Jeong CS, Jung KH. 2002. Protective effects of *Angelica tenuissima* Nakai on hepatotoxicity by carbon tetrachloride in rats. *J Applied Pharm* 10: 211-217.
21. Hays AW. 1982. *Principles and methods of toxicology*. Raben Press, New York. p 407.

(2003년 7월 23일 접수; 2003년 12월 10일 채택)