

## 실험적 간장해에 대한 WY-91제제의 영향

한상수 · 손동환\* · 김재백

원광대학교 약학대학

### The Effect of WY-91 Preparation on Experimental Liver Injury in Mice.

Sang Soo Han, Dong Hwan Sohn\*, and Jae Baek Kim

College of Pharmacy, Wonkwang University

The present study was designed to examine the effect of tested preparation, WY-91 (consisting of ginseng extract, ganoderma extract and Royal jelly) on alcohol-induced unusual metabolism (such as blood glucose (BG), triglyceride (TG), and blood urea nitrogen (BUN) level in blood) and experimental liver injury (CCl<sub>4</sub> and high fat diet) in mice. WY-91 lowered the level of blood glucose (BG), triglyceride (TG) and blood urea nitrogen (BUN) induced by alcohol in a dose-dependent manner. This preparation could protect hepatic function from a damages caused by high fat diet and CCl<sub>4</sub> administration (p.o.).

#### 서 론

인삼 및 인삼의 유효성분에 관한 많은 연구가 있었으나 인삼을 주원료로 한 인삼제제에 관한 연구는 별로 많지 않다. 또한 영지는 신농본초경의 상품에 靑芝, 赤芝, 黃芝, 白芝, 黑芝, 紫芝의 6종이 수재되어 “久食輕身不老延長”이라 기재하고 있으며 고래로부터 불로장수의 영약으로 쓰인 한약이다. 영지의 효능으로는 정혈작용<sup>1,2)</sup>, 혈압조절작용<sup>3)</sup>, 인슐린 분비촉진작용<sup>4)</sup>, 천식 억제작용<sup>2)</sup>, 알러지 억제작용<sup>5)</sup>, 항암작용<sup>6,7)</sup>, 면역증강작용<sup>8)</sup> 등 많은 연구가 이루어 졌다. 한편 alcohol의 남용은 사람의 간손상에 상당한 원인을 차지하며 alcohol의 대사 경로는 주로 alcohol dehydrogenase에 의하며 그 첫대사물인 acetaldehyde는 간 기능을 비롯한 심

혈관계, monoamine 유리 및 대사등에 높은 활성을 나타낸다<sup>9)</sup>.

이러한 점에 있어서 이번에 저자들은 인삼엑스, 영지엑스 등으로 복합처방된 제제(WY-91)의 약리학적 효과검정의 일환으로서 alcohol성의 대사 장애 및 간기능 장애라고 하는 관점에서 검토하였다. 즉, alcohol로 유발된 혈중 glucose (BG), triglyceride (TG) 및 혈요소질소 (BUN)의 상승에 대한 영향과 고지방 식이성 및 사염화탄소 유발성 간 장애 모델에 대한 피험제제인 WY-91의 투여에 의한 영향에 대하여 검토하였다.

#### 실험 방법

피험약물의 조제

\*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

WY-91(인삼엑스, 영지엑스 등을 제조한 다음 이들 엑스를 일정한 비율로 하여 조제)을 필요에 따라 농도를 조절하여 피험약물로 사용하였다 (Table I).

Table I. Ingredients of tested preparation.

Ginseng Ex.	400mg
Royal Jelly	100mg
Ganoderma Ex.	500mg

실험동물

실험동물로는 dd계 웅성mouse를 구하여 실험실 환경에 적응시키기 위하여 표준 고형사료(제일사료)로 2주간 사육하였으며, 이 기간동안 물은 자유로이 섭취 시켰다. 실험에는 체중 20~25g의 건강한 mouse를 사용하였다.

피험약물의 투여용량

WY-91로서 150, 300, 600mg/kg을 경구로 투여 하였다.

실험방법

(1) Alcohol은 유발성의 blood glucose, triglyceride, blood urea nitrogen의 상승에 대한 영향 Mouse에 WY-91을 용량별로 경구투여한 후 60분후에 50% (w/v) alcohol 5.0g/kg을 경구투여하고 4시간후에 단두하여 경동맥으로부터 채혈한 다음 혈액을 원심분리(4000rpm×10min)하여 혈청을 분리하고 혈청중의 BG, TG, BUN치를 측정하였다.

(2) High fat diet에 의한 간장해 model에 대한 영향

High fat diet에 의한 간장해 유발은 mouse에게 고지방식(70% lard, 20% casein, 1.5% vitamin mixture, 3.5% salt mixture and 5% methylcellulose without carbohydrate)으로 5일간 사육시킨다<sup>10)</sup>.

실험은 mouse에 WY-91을 용량별로 각각 5일간 매일 1회 경구투여하고 최종투여후 20시간동안 절식시킨 다음 단두하여 경동맥으

로부터 채혈한 혈액을 원심분리(4000rpm×10 min.)하여 혈청을 분리한 다음 혈청중의 GPT (Glutamate Pyruvate Transaminase)를 Reitman Frankel<sup>11)</sup>법으로 측정하였다.

(3) 사염화탄소 유발성간장해 model에 대한 영향

Mouse에 WY-91을 용량별로 각각 4일간 매일 1회 경구투여하고 최종투여 2시간 후에 olive oil에 현탁시킨 1.0% (v/v) CCl<sub>4</sub> 5ml/kg을 복강내 투여하고 24시간후에 단두하여 경동맥으로부터 채혈한 혈액을 원심분리(4000 rpm×10min.)하여 혈청을 분리한 다음 혈청중의 GOT, GPT를 Reitman-Frankel<sup>11)</sup>법으로 측정하였다.

실험결과 및 고찰

Alcohol 유발성의 BG, TG, BUN의 상승에 대한 영향

Mouse에 50% (w/v) alcohol 5.0g/kg을 경구투여 하였더니 혈당(BG)치는 정상군의 130.6에서 257.4 mg/dl로 triglyceride(TG)치는 정상군의 146.8에서 236.3mg/dl로 혈요소질소(BUN)치는 정상군의 18.2에서 36.8mg/dl로서 alcohol 투여로 BG, TG, BUN치가 유의성 있게 상승하였다(Fig. 1, Table II).

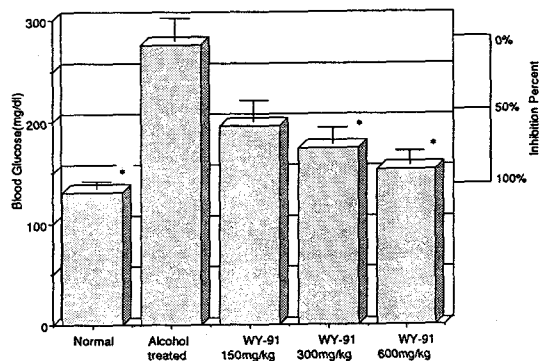


Fig. 1. Effect of WY-91 on serum glucose level under the ethanol administration in mice. Each value represents the mean±S.E. of ten mice. \*Statistically significant different from alcohol treated group. (p<0.05)

Table II. Effect of WY-91 on serum triglyceride and urea nitrogen level under the ethanol administration in mice.

	Dose(mg/kg)	TG(mg/dl)	BUN(mg/dl)
Normal	—	146.8± 7.8*	18.2± 0.9*
Alc. treated	—	236.3± 26.9	36.8± 3.2
WY-91	150	181.7± 21.7	30.5± 3.1
	300	163.4± 18.2*	28.7± 2.5
	600	161.2± 17.7*	23.1± 2.3*

Each value represents the mean± S.E. of ten mice.

\*Statistically significant different from alcohol treated group.(p<0.05)

혈당(BG)에 대한 영향을 보면 alcohol투여군의 275.4mg/dl에 비해 피험제제(WY-91) 150, 300, 600 mg/kg 투여군은 각각 196.5(억제율; 54.5%), 173.8(억제율; 70.2%), 152.7mg/dl(억제율; 84.7%)였다. 특히 WY-91 300, 600mg/kg투여군은 alcohol투여군에 비하여 통계학적으로 유의성있는 억제작용을 나타내었다.

alcohol섭취후 과혈당의 요인으로는 alcohol 대사에 의해 생성된 acetaldehyde가 부신을 자극함으로써 유리되는 catecholamine을 통한 gluconeogenesis<sup>12)</sup>와 간에서의 TCA cycle arrest등을 들 수 있다. 이와 같은 상태하에서 WY-91 150, 300, 600 mg/kg의 용량을 투여하므로써 혈당치의 상승을 억제한 것은 WY-91제제 성분중 영지의 인슐린 분비 촉진작용<sup>4)</sup>과도 깊은 관계가 있는 것으로 사료된다.

Triglyceride(TG)에 대한 영향을 보면 alcohol로 유발된 TG치의 상승은 WY-91 300, 600mg/kg 투여군에서 alcohol 투여군과 비교해 163.4(억제율; 81.5%), 161.2mg/dl(억제율; 83.9%)로 유의성있는 억제작용을 나타내었으나 WY-91 150mg/kg투여군의 경우 억제효과는 있었으나 유의성은 없었다.

일반적으로 alcohol의 지속적인 섭취는 지방간을 유도하게 되는데 그 기작은 alcohol이 acetate로 산화되는 과정에서 두개의 reduced nicotinamide adenine dinucleotide가 생성되어 미토콘드리아내의 NADH/NAD의 balance가 현저히 증가되고 phos-

pholylation potential의 변화 및 TCA cycle arrest로부터 유입되는 lipid의 이용이 멈춰 축적이 일어나게 된다. 이번 본 실험의 조건하에서 혈청 TG치가 상승한 발현기작도 이러한 기작에 의해 상승한 것으로 추측된다. 이러한 상태에서 WY-91 300, 600mg/kg의 투여로 유의성있는 억제작용을 나타냈다. 이러한 결과는 Chung<sup>13)</sup>등이 영지엑스 300, 500mg/kg투여군에서 대조군과 비교해 혈청 중의 TG치의 유의성있는 상승, 억제작용을 나타낸다는 보고와도 일치한다.

또한 혈요소질소(BUN)에 대한 영향을 보면 이번 실험에서 alcohol 5.0g/kg을 경구적으로 투여함으로써 BUN치는 정상군의 18.2mg/dl에서 36.8 mg/dl로 유의성있게 상승되었다. 이와같은 alcohol투여로 유도된 혈청 BUN치의 상승에 관해 Klatskin<sup>14)</sup>, Klingman<sup>15)</sup>, Bekairi등<sup>16)</sup>도 동일하게 혈청 중에서의 상승을 rat, dog, mouse 등의 실험으로 확인하였다. 이러한 기전은 alcohol이 간장에서의 단백, 아미노산등의 대사를 지연시킴으로써 이것에 의해 질소대사와 신장에서의 배설의 불균형이 원인으로 일어나는 것으로 추측된다. 이와같이 alcohol 투여로 BUN이 상승된 상태에서 WY-91 150, 300mg/kg 투여군에서는 유의성은 없었으나 상승된 BUN치를 억제시키는 경향을 나타냈으며 WY-91 600mg/kg투여군에서는 유의성있는 억제작용을 나타내었다.

High fat diet에 의한 간장해 유발 model에 대한 영향

Mouse를 high fat diet로 5일동안 사육하였더니 혈청 GPT치는 정상군의 6.08mU/ml에서 66.73 mU/ml로 유의성있게 상승되었다(Fig. 2).

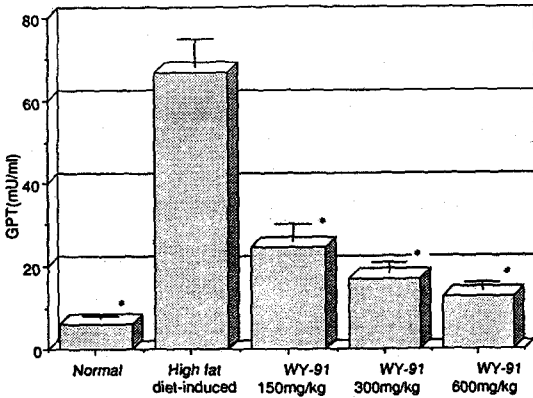


Fig. 2. Effect of WY-91 on high fat diet-induced experimental liver injury in mice.

\*Statistically significant different from the high fat diet treated group.(p<0.05)

High fat diet 섭취와 함께 WY-91 150, 300, 600 mg/kg을 투여함으로써 대조군의 GPT치 66.73 mU/ml와 비교해 24.51(억제율; 69.6%), 16.87(억제율; 82.8%), 12.63mU/ml(억제율; 89.2%)로 유의성있는 억제작용을 나타내었다. 특히 이러한 작용은 용량의존적이었다.

High fat diet의 2~3일간 섭취는 ethanol-inducible P450의 pretranslational activation으로 expression level이 5~8배정도 증가되는 것으로 저자등에 의해 보고<sup>10)</sup> 된 바 있다. alcohol에 의한 간 독성도 high fat diet와의 병용에 의해 그 정도가 심화되는데 이러한 독성은 라디칼 생성에 기인하는 것으로 알려져 있다. 뿐만아니라 high fat diet 그 자체에 의해서도 alcohol과 병용시 보다는 정도가 약하지만 고지혈증이 유도되며 간기능의 지표인 GPT 등이 상승됨으로 이러한 맥락에서 본 실험에서는 total lipid치가 아닌 GPT치에 미치는 영향을 실험하였다.

사염화탄소 유발성간장해 model에 대한 영향

각 실험군간의 GOT, GPT 측정결과는 Fig. 3과 같다.

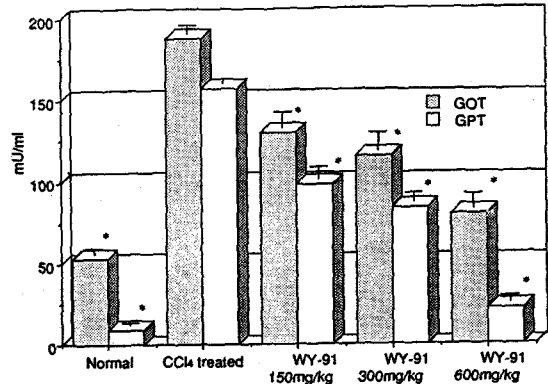


Fig. 3. Effect of WY-91 on CCl<sub>4</sub>-induced experimental liver injury in mice.

Each value represents the mean±S.E.

\*Statistically significant different from the CCl<sub>4</sub> treated group.(p<0.05)

CCl<sub>4</sub> 단독투여군의 GOT, GPT치가 정상군의 경우보다 유의성있게 높았다.

GOT의 경우 CCl<sub>4</sub> 단독투여군과 비교해 WY-91 150, 300, 600mg/kg 투여군의 GOT치는 129.51(억제율; 39.5%), 115.49(억제율; 53.5%), 79.72mU/ml(억제율; 80.0%)로서 유의성있는 억제작용을 나타냈다.

한편 GPT효소는 간장에 가장 많이 존재하는 효소로서 간손상의 여부를 가장 확실하게 확인할 수 있는 효소이며 WY-91 150, 300, 600mg/kg투여군의 GPT치가 CCl<sub>4</sub> 단독투여군 156.72mU/ml에 비해 각각 98.47(억제율; 39.5%), 83.58(억제율; 49.6%), 21.73mU/ml(억제율; 91.6%)로서 WY-91 투여군의 유의한 GPT개선효과는 의미가 크다고 하겠다.

Hepatotoxic agent인 CCl<sub>4</sub>는 P4502E1에 의해 대사되어 ·CCl<sub>3</sub>를 생성하고 산소분자 존재시에는 ·OOCCL<sub>3</sub>로 신속하게 변화함으로써 이것 자체에 의해 cell damage를 입히게 된다 이러한 물질들은 반응성이 매우 강하여 그 작용부위가 P<sub>450</sub>이나 endoplasmic reticulum 주변으로 한정되어 있다. 그러나 이러한 작용에도 불구하고 CCl<sub>4</sub>는 간세포

전체 특히 plasma membrane에 독성을 나타내게 됨으로써 결과적으로 단백질합성저해, cell death 등을 초래하게 된다. 그리하여 최근에는 이 secondary mechanism에 대한 두가지 이론이 다음과 같이 제시되었다.

i) Lipid peroxidation에 의해 생성되는 aldehyde 산물이 endoplasmic reticulum으로부터 세포의 다른 부위로 퍼져나가면서 각종 세포의 구조나 기능에 저해를 준다는 것이다.

ii) CCl<sub>4</sub>투여로 인해 간세포의 Ca<sup>2+</sup> homeostasis가 파괴되고 이것에 의해 endoplasmic reticulum과 mitochondria내에 있던 Ca<sup>2+</sup>이 세포질 내로 재분포됨으로써 세포내 free Ca<sup>2+</sup>의 농도의 상승이 일어나 plasma membrane 파괴가 일어난다는 것이다<sup>17-20</sup>. 따라서 본연구에서도 1% CCl<sub>4</sub> 5ml/kg 투여로 GOT, GPT치의 상승을 확인할 수 있었고 WY-91의 투여가 GOT, GPT치의 상승을 억제시켰다.

### 결 론

인삼엑스, 영지엑스, royal jelly 로 복합처방된 제제(WY-91)의 약리학적 효과검정의 일환으로서 alcohol로 유발된 혈중 glucose(BG), triglyceride(TG) 및 혈요소질소(BUN) 상승에 대한 영향과 high fat diet 및 사염화탄소 유발성 간장장애 model에 대한 WY-91투여효과에 대한 결론은 다음과 같다.

1. WY-91 300, 600mg/kg 투여군은 alcohol투여로 상승된 glucose의 농도에 대해 각각 억제율이 70.2%, 84.7%로 유의성있는 억제작용을 나타냈다.
2. WY-91 300, 600mg/kg투여군에서는 alcohol투여로 상승된 TG치에 대해 각각 억제율이 81.5%, 83.9%로 유의성있는 억제작용을 나타냈다.
3. WY-91 600mg/kg투여군은 alcohol투여로 상승된 BUN치에 대해 유의성있는 억제작용을 나타냈다.
4. WY-91 150, 300, 600mg/kg투여군은 high fat diet로 사육하여 상승된 GPT치에 대하여 억제율이 각각 69.6%, 82.8%, 89.2%로서 유의성

있는 억제작용을 나타냈다.

5. WY-91 150, 300, 600mg/kg투여군은 CCl<sub>4</sub> 투여로 상승된 GOT, GPT치에 대해서도 유의성있는 억제작용을 나타냈다.

### 감사의 말씀

본 연구는 92학년도 원광대학교 주산학술연구비 지원에 의해 수행된 연구의 일부로서 이에 감사드립니다.

### 참 고 문 헌

1. 久保道德, 松田秀秋, 野上眞里 等, 日本藥學會誌, 103, 871(1983).
2. 木村善行, 奥田拓道, 有地滋 等, 基礎와 臨床, 18, 59(1984).
3. 有地滋, 谿忠人, 久保道德 等, 基礎와 臨床, 13, 175(1979).
4. 木村善行, 奥田拓道, 有地滋 等, 基礎와 臨床, 17, 17(1983).
5. 久保道德, 野上眞里, 水村活人, 日本生藥學會總會 84年次大會要旨集 29(1984).
6. 金炳珏, 鄭敬壽, 梁文植, 韓國菌學會誌, 8, 107 (1980).
7. Miyazaki, T., and Nishijima, M., *Chem. Pharm. Bull.*, 29, 3611(1981).
8. 姜昌律, 崔應七, 金炳珏等, 韓國生化學會誌, 14, 101(1981).
9. Brien, J. F. and Loomis, C. W., *Can J. Physiol. Pharmacol.*, 61, 1(1983).
10. Yun, Y. P., Sohn, D. H., Casazza, J. P., Veech, R. L., and Song, B. J., *Molecular Pharmacology*, 41, 474((1992).
11. Reitman, S., and Frankel, S., *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 26(1957).
12. D.L. Topping, D.G. Clark, G. B. Storer, et al, *Biochem. J.*, 184, 97(1979).
13. Chung, M, H., 제3회 영지버섯 국제심포지움 초록집, p.38(1991).
14. G. Klastkin, *J. Biol. Med.*, 34, 124(1961).

15. G. I. Klingman, H. B. Haag, *Quart. J. Stud. Alc.*, 19, 203(1958).
16. A. M. Bekairi F. S. Abulaban, M. Tariq, et al, *Alcohol and Drug Research*, 7, 471(1987).
17. Clawson, G., *Patho. Immunopatho. Res.*, 8, 104 (1989).
18. Brattin, W. J., Glende, E. A., and Recknagel, R. O., *J. Free Radicals in Biology & Medicine*, 1, 27(1985).
19. Recknagel, R. O., Glende, E. A., Dolak, J. A., and Waller, R. L., *Pharmac. Ther.*, 43, 139 (1989).
20. Sohn, D. H., Yun, Y. P., Park, S. S., Veech, R. L., and Song, B. J., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179, 449(1991).