

사염화탄소, phenobarbital 및 인진호 투여가 담관계에 미치는 영향*

이화여자대학교 의과대학 의학부
裴 玲 淑

= ABSTRACT =

Studies on the Effect of CCl_4 , Phenobarbital and *Artemisia Messes-schmidiana* Var *Viridis* on the Biliary Excretion in Rat

Young Sook Pae, M.D., Ph.D.,
Dept. of Medicine

After animals were treated with CCl_4 , histological changes were shown in the endoplasmic reticulum, and also microsomal activity was decreased and hepatic necrosis, lipid peroxidation in the liver were reported.

Repeated administration of phenobarbital results in the induction of enzyme that metabolize a number of drugs and, Roberts and Plaa reported that bilirubin output was increased significantly after administration of phenobarbital in rats.

Artemisia was used as folk medicine for the treatment of hyperbilirubinemia. Kiku Tanni(1968) claimed that administration of *Artemisia* in patient with acute hepatitis, significantly lowered the bilirubin index, S.G.O.T and S.G.P.T.

The purpose of the this report was to study the effect of CCl_4 , phenobarbital, *Artemisia* on biliary excretion.

The results obtained are summarized as follows.

- 1) Volume of the bile juice was decreased in CCl_4 group but increased in phenobarbital and *Artemisia* group.
- 2) Biliary output was slightly decreased in CCl_4 group but increased in phenobarbital group.
- 3) Cholate output was decreased in CCl_4 group, but phenobarbital and *Artemisia* group was shown significant increase.
- 4) Cholesterol output was decreased in CCl_4 group, but increased in phenobarbital group.

By the above results, it is felt that after treated with phenobarbital and *Artemi*

* 본 논문은 1981년도 한국생활과학연구원 연구비 지급에 의하여 이루어짐.

sia. following liver damage with CCl_4 , detoxication process was shown and the liver damage were protected.

서 론

요사이 여러가지 화학적 물질이 간세포의 파괴, 또는 증식등 기타 다양한 병변을 일으키며, 간염등 질환이 점차 증가하는 추세에 있다.

1967년 Conney가 phenobarbital 투여시 약물대사에 관여하는 간장 microsome 효소가 증가된다고 보고한 이래, 많은 약물이 간의 약물대사효소들을 증가시키는 소위 inducer로 작용한다고 하여 학계에 관심을 모으고 있다. 또 Roberts와 Plaa(1967)는 phenobarbital 투여시 흰쥐 담즙 bilirubin 포함능의 증가로 황달치료에 사용할 수 있음을 시사한 바 있다.

1968년 薊谷는 급성간염 환자에 인진호탕(茵陳蒿湯)을 투여하여 황달치수를 정상범위내로 낮추었다고 한다.

그리하여 본 연구자는 간장 약물대사효소에 영향을 미치는 CCl_4 (사염화탄소), phenobarbital, 인진호 등을 투여하여 담관계에 미치는 영향을 보았으며, 아울러 CCl_4 투여로 야기되는 간 손상시 phenobarbital, 인진호를 투여하여 담관계에 미치는 영향을 비교 관찰하고자 하였으며 이에 대한 결과를 보고 하는 바이다.

실험재료 및 방법

A. 실험재료

1. 실험동물

체중 180g 내외의 수컷 흰쥐를 사용하여 6개군으로 배치하였다. 실험기간중 사료는 단백질 15% 이상 및 지방 3% 이상 함유된 시판의 혼합사료로 사육하였다.

2. 실험군

제 1군(대조군) : 0.9% NaCl 0.2ml를 매일 복강내로 3일간 투여하였다.

제 2군(CCl_4 단독투여군) : CCl_4 를 50% 용액으로 만들어 0.2ml/kg 씩 복강내로 1일 투여하였다.

제 3군(Phenobarbital 단독투여군) : Phenobarbital Sod. 50mg/kg을 매일 복강내로 3일간 투여하

였다.

제 4군(인진호 단독투여군) : 인진호 (1g/ml)를 매일 복강내로 0.6ml/kg 씩 3일간 투여하였다.

제 5군(CCl_4 전처치후 phenobarbital 투여군) : CCl_4 를 50% 용액으로 만들어 0.2ml/kg 씩 복강내로 1일 투여한 후 phenobarbital Sod.을 50mg/kg 씩 3일간 복강내로 투여하였다.

제 6군(CCl_4 전처치후 인진호투여군) : 50% 용액 CCl_4 를 0.2ml/kg 씩 복강내로 1일 투여한 후 인진호 (1g/ml)를 3일간 0.6ml/kg 씩 복강내로 투여하였다.

3. 약 품

CCl_4 용액 : CCl_4 는 olive 유에 용해시켜 50% 용액으로 만든후 0.2ml/kg 씩 복강내로 주사 하였다.

Phenobarbital 용액 : Sod. Phenobarbital을 50mg/kg 씩 복강내로 3일간 주사하였다.

인진호용액 : Artemisia messes-schmidiana var. viridis(학명) 즉 인진호를 구입하여 원료의 10배 가량 물을 붓고, 4시간 정도 끓인후 냉각시켜 60°C 이내의 온도에서 감압 농축시켰다. 그리하여 원액 1.0ml 가 원료 1g에 해당되게 농축하였다. 그후 gauze에 filter시켜 사용하였다.

B. 실험 방법

흰쥐를 secobarbital sodium(30mg/kg) 마취하에 背位로 고정하고 개복하여 미세한 polyethylene tube를 담취관에 삽입하여 2시간 동안 유출되는 담취액을 채취하였다. 채취된 담즙은 담즙량, bilirubin, cholate, cholesterol 등의 측정에 이용되었다. Cholate는 Irvin 등(1944)의 방법에 따라 furfural로 발색 측정하였으며, cholesterol은 Frankel 등(1963)의 방법에 의거 측정하였다.

실 험 성 적

A. 담즙 분비량

대조군(0.36 ± 0.011)에 비해 CCl_4 단독투여군(0.29 ± 0.016)이 현저한 감소를 보이고, phenobarbital 단독투여군과 인진호 단독투여군에서는 현저히 증가함

Table 1. Effects of CCl₄, phenobarbital and artemisia, on the volume and bilirubin in bile juice

| Group | No. of rats | Volume | Bilirubin | |
|----------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------|---------------------------|
| | | (ml/hr./100g b. w.) | Concentration (mg/ml) | Output (mg/hr./100g b.w.) |
| Control | 20 | 0.36 ± 0.011 | 3.6 ± 0.21 | 1.3 ± 0.06 |
| CCl ₄ | 18 | ***0.29 ± 0.016 | 3.5 ± 0.32 | 1.0 ± 0.08 |
| Phenobarbital | 20 | ***0.48 ± 0.024 | ***2.6 ± 0.16 | 1.2 ± 0.06 |
| Artemisia. | 13 | ***0.54 ± 0.032 | ***2.2 ± 0.17 | 1.2 ± 0.10 |
| CCl ₄ + Phenobarbital | 13 | ***0.48 ± 0.026 | 3.2 ± 0.21 | 1.5 ± 0.12 |
| CCl ₄ + Artemisia. | 13 | 0.41 ± 0.031 | 3.0 ± 0.25 | 1.2 ± 0.09 |

Values are means ± S.E. *P < 0.05 ** P < 0.01 *** P < 0.001

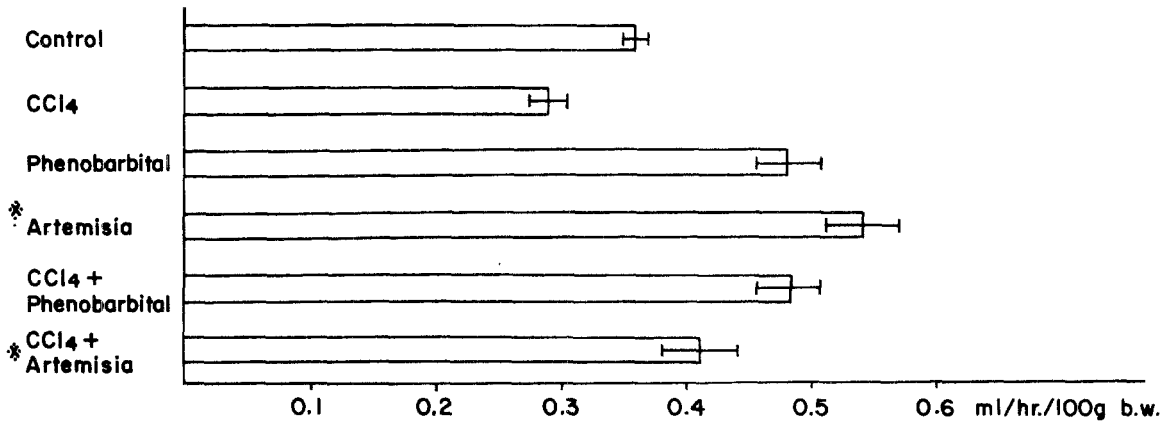


Fig. 1. Effect of CCl₄, phenobarbital and artemisia, on the volume of biliary juice (*Artemisia; 인진호).

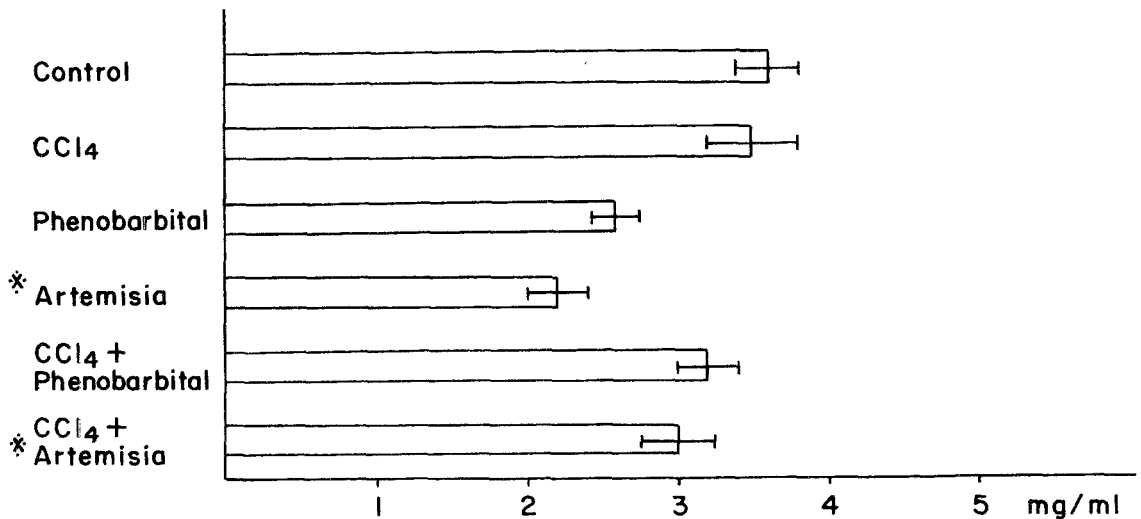


Fig. 2. Effect of CCl₄, phenobarbital and artemisia, on the bilirubin concentration in bile juice (*Artemisia; 인진호).

을 나타내었다($P < 0.001$). CCl_4 전처치후 phenobarbital 투여군에서도 상당히 증가되었다($P < 0.001$) (제 1 표, 제 1 도 참조).

B. 담즙 bilirubin 치

담즙 bilirubin 배출량은 모든 군에서 비슷한 치를 나타내었으나 phenobarbital 단독 투여군과 인진호 단독투여군은 bilirubin 농도의 현저한 감소를 보였다($P < 0.001$) (제 1 표, 제 2 도 참조).

C. 담즙 cholate 치

인진호 단독투여군에서 cholate 농도와 배출량 모두 현저히 증가되었다($P < 0.001$). 그러나 phenobarbital 단독 투여군에서 cholate 농도가 현저히 감소되었다($P < 0.001$) (제 2 표, 제 3 도 참조).

D. 담즙 cholesterol 치

Phenobarbital 단독 투여군이나 인진호 단독 투여군 모두 cholesterol 농도의 현저한 감소를 보였다($P < 0.001$) (제 2 표, 제 4 도 참조).

고 찰

Cameron 및 Karunaratne(1936) 가 CCl_4 를 쥐에 투여하여 간장손상을 유발시킨 이래, CCl_4 , chloroform 및 arsenics 등이 간 손상을 일으키는 물질로 실험에 널리 이용되고 있다. Rechnagel (1967) 에 의하면 CCl_4 는 간장에 대하여 간세포 괴사와 지질변성을 일으킨다고 한다. 그러나 그기전에 대하여 많은 연구가 계속되었음에도 불구하고 아직 명백히 규명되지 못하고 있다.

Table 2. Effects of CCl_4 , phenobarbital and artemisia, on the cholate, cholesterol in bile juice

| Group | No. of rats | Cholate | | Cholesterol | |
|-------------------------|-------------|-----------------------|---------------------------|-----------------------|---------------------------|
| | | Concentration (mg/ml) | Output (mg/hr./100g b.w.) | Concentration (mg/ml) | Output (mg/hr./100g b.w.) |
| Control | 20 | 3.6 ± 0.19 | 1.3 ± 0.05 | 0.59 ± 0.017 | 0.22 ± 0.008 |
| CCl_4 | 18 | 3.4 ± 0.20 | ***1.0 ± 0.06 | 0.61 ± 0.017 | 0.23 ± 0.014 |
| Phenobarbital | 20 | ***2.7 ± 0.17 | 1.2 ± 0.05 | ***0.45 ± 0.019 | 0.20 ± 0.009 |
| Artemisia. | 13 | ***5.0 ± 0.20 | ***2.1 ± 0.10 | ***0.41 ± 0.016 | *0.18 ± 0.017 |
| CCl_4 + Phenobarbital | 13 | 3.7 ± 0.27 | ***1.7 ± 0.09 | 0.56 ± 0.022 | **0.27 ± 0.015 |
| CCl_4 + Artemisia. | 13 | ***5.6 ± 0.27 | ***1.9 ± 0.18 | 0.51 ± 0.028 | 0.22 ± 0.019 |

Values are means ± S. E. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

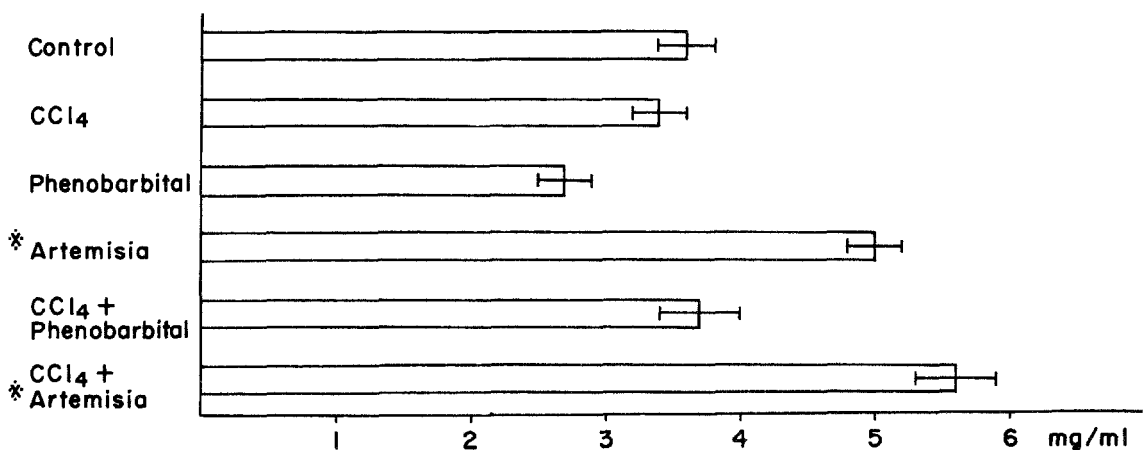


Fig. 3. Effect of CCl_4 , phenobarbital and artemisia, on the cholate concentration in bile juice (*Artemisia; 인진호).

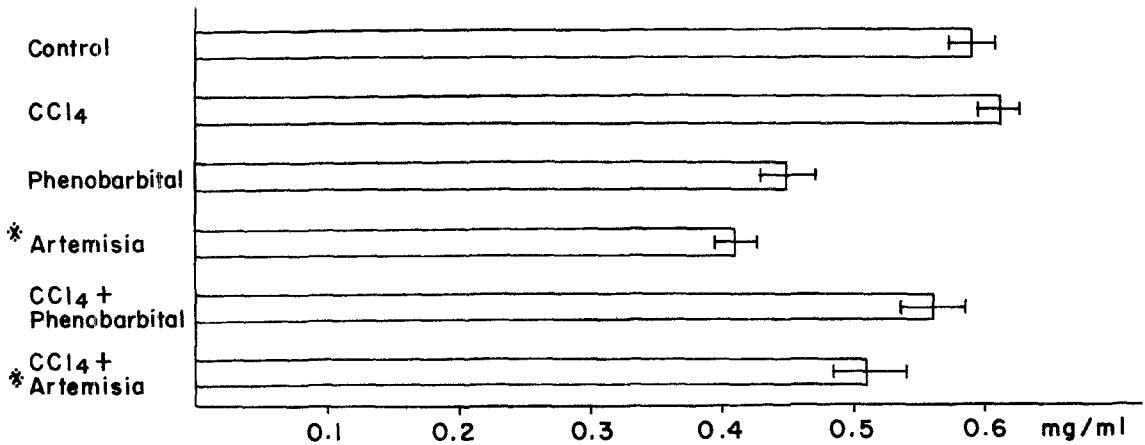


Fig. 4. Effect of CCl₄, phenobarbital and artemisia, on the cholesterol concentration in bile juice (*Artemisia; 인진호).

1958년 Rechnagel, Malamed는 CCl₄가 mitochondria의 중창을 일으키고 이는 mitochondria 막의 투과력 증가에 기인된다고 하였다. 그 후 Brody (1961) 등이 실험한 바, CCl₄가 교감신경 흥분을 일으키고, 간장혈관 수축을 일으켜 결국 간의 혈액공급에 장애가 오고 산소가 결핍되어 epinephrine 유리 및 더불어 지방조직으로부터 유리지방산이 나와 간 손상이 온다고 보고하였다.

Hashimoto (1968) 등은 간세포 지방의 peroxidation으로 간 손상이 오며, 1982년 Kulkarni와 Hodgson은 간세포 괴사는 mitochondria 손상, lysosome 손상, protein 합성 억제, 지방 peroxidation 등의 복합된 사실로 설명하였다. 그들은 또 electron transport 계에서 볼 때 CCl₄가 간장 microsome 내 지방 peroxidation을 자극하며 결과적으로 cytochrome p-450과 microsome 내 heme을 상당히 감소시킨다고 보고하였다.

본 실험결과에 의하면 CCl₄로 간손상을 일으킨 경우, 간장의 담즙분비가 현저히 감소하였으며, bilirubin, cholate, cholesterol 등은 대조군과 비슷한치를 나타내었다. 이점으로 보아 CCl₄투여로 담즙배출에 지장을 초래한다고 볼 수 있다.

Conney (1967)가 phenobarbital을 투여하면 약물대사 효소에 관여하는 간장 microsome 효소가 증가되고 그 결과 약물대사를 증가시켜 약물의 작용시간이 짧아진다고 보고한 이래 무수히 많은 연구 논문들이 이를 입증해 주었다. Roberts와 Plaa (1967)는

phenobarbital을 투여한 마우스의 혈장 bilirubin이 현저히 감소됨을 보고하였으며 흰쥐에서 bilirubin 배출이 증가됨을 보고한 바 있다. Bloomer와 Boyer (1975)는 phenobarbital 투여시 간장혈류가 증가되고, bilirubin uptake가 증가되며, cytochrome p-450과 ligandin을 증가시킬 뿐 아니라 담즙산 및 담즙분비도 증가시킨다는 것이다. 그러나 본 실험에서는 담즙배출량은 현저히 증가되었으나, bilirubin, cholate 및 cholesterol 배출은 대조군과 비슷한치를 나타내고 있다. 또 CCl₄로 간 손상을 일으킨 후 phenobarbital을 투여한 군에서 보면 담즙 배출량도 현저히 증가될 뿐 아니라 cholate 및 cholesterol 분비도 현저히 증가시키며 CCl₄투여군에 비해 bilirubin 배출도 증가시키는 것으로 보아 phenobarbital이 CCl₄의 해독현상을 나타낸다고 생각된다. Kulkarni와 Hodgson은 1982년 phenobarbital 투여시 microsome 효소를 증가시켜 독물질을 해독시킬 뿐 아니라 독물질의 대사산물을 증가시킴으로써 더욱 중독화시킬 수 있다는 二價的 기능을 논한 바 있다. 그러나 본 논문의 결과로 보면 phenobarbital은 CCl₄투여로 인한 간 장애로부터 간을 보호할 수 있다고 하겠다.

인진호는 옛부터 민간요법으로 황달 치료에 사용해 왔다. 근래 菊谷 (1968)의 보고에 의하면 急性肝炎환자에 茵陳蒿湯과 小柴胡湯을 10일간 투여하여 S.G.O.T., S.G.O.T가 정상화된 것을 볼 수 있었다고 한다. 梁 (1959)은 전염성 간염 71예에서 茵陳蒿湯을 투여한 결과, 전염성 간염의 급성기를 단축시켰고, 증상을

경감시켰으며, 특히 황달이 현저히 없어짐을 볼 수 있으나 황달 上乘期, 황달발현 등에는 변화가 없었다고 한다. 湖南醫藥工業研究所(1972)에서 발표한 바에 의하면 건강한 흰쥐에 인진호 투여시 利胆作用이 현저히 나타났으며, 담즙 중 고체물인 담즙산과 bilirubin의 배출량이 증가되었다고 한다. 또 흰쥐에 CCl₄ 투여로 간 손상을 일으킨 경우에 인진호를 투여하여 담즙분비가 증가되었다고 보고하였다. 본 실험에서는 인진호 단독투여시 담즙분비는 현저히 증가되나 bilirubin 배출은 대조군과 같고 cholate 배출이 현저히 증가됨을 보였다. 또 CCl₄ 투여로 간 손상을 일으킨 경우 인진호를 투여하면 담즙분비가 현저히 증가되나 bilirubin 배출은 약간 증가하고, cholate 배출이 현저히 증가됨을 보여 주어 상기 보고와 일치하는 바이다.

Phenobarbital 투여군과 인진호 투여군을 비교해 보면 상당히 비슷한 양상을 나타내고 있으며 CCl₄ 투여로 인한 간 손상시 이들 약제를 사용하면 담즙분비 증가와 함께 cholate 배출증가를 현저히 일으키나 bilirubin 배출은 약간 증가시키며 이때 phenobarbital이 더 우세함을 볼 수 있다. 그리하여 본 실험 연구자는 CCl₄ 투여로 인한 간 손상시 phenobarbital 및 인진호가 담즙분비 및 cholate 배출을 현저히 증가시키며 bilirubin 배출도 다소 증가시킴으로써 간장을 이들 병변으로부터 보호하며 황달치료에 다소 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료되어 보고하는 바이다.

결 론

흰쥐에 CCl₄, phenobarbital, 인진호를 투여하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) CCl₄ 투여로 담즙분비량이 현저히 감소되었으나 phenobarbital 및 인진호투여시 담즙분비량이 현저히 증가되었다.

2) CCl₄ 투여로 담즙 bilirubin 배출이 약간 감소되었으나 phenobarbital 투여로 증가되었다.

3) CCl₄ 투여로 cholate 배출이 감소되었으나 phenobarbital 및 인진호 투여로 현저히 증가되었다.

4) Cholesterol 배출은 모든 군에서 별 차이가 없었으나 CCl₄ 투여후 phenobarbital 투여시 증가되었다.

이상의 실험 결과를 종합 해 보면 CCl₄로 인한 간 손상에 phenobarbital 및 인진호를 투여 함으로써 간장을 보호하며 황달치료에 효과가 있을 것으로 사료되는 바이다.

-References-

1) Bloomer, J.R., and Boyer, J. L. : Phenobarbi-

tal effects in cholestatic liver disease. *Ann. Intern. Med.*, 82 : 310 - 17, 1975.

2) Brody, T.M., Calvert, D.N. and Schneider, A.F. : Alterations of CCl₄ induced pathologic changes in the rat by spinal transection, adrenalectomy and adrenergic blocking agents. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 131 : 341 - 345, 1961.

3) Cameron, G.R., and Karunaratne, W. A. E. : Carbontetrachloride cirrhosis in relation to liver regeneration. *J. Path. et Bact.*, 42 : 1, 1936.

4) Conney, A.H. : Pharmacological implications of microsomal induction, *Pharmacol. Rev.*, 19 : 317 - 366, 1967.

5) Frankel, S. and Reitman, S : Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. Mosby, 1 : 256, 1963.

6) Hashimoto, S., Glende, E. A. Jr. and Rechnagel, R. O. : Hepatic lipid peroxidation in acute fatal human carbontetrachloride poisoning. *New. Engl. J. Med.*, 279 : 1082 - 1086, 1968.

7) Irvin, J. L., Johnston, G. and Kopalz, J. : A photometric method for the determinations of cholates in blood and bile. *J. Biol. Chem.*, 153 : 439 - 457, 1944.

8) Kulkarni, A. P., and Hodgson, E. : Hepatotoxicity. In Hodgson, E. and Guthrie, F. E. : Introduction to biochemical toxicology, Elsevier Science Publishing Co., Inc., New York 1982. Chapter 18, pp. 341 - 356.

9) Rechnagel, R. O. : Carbontetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.*, 19 : 145 - 208, 1967.

10) Roberts, R.J. and Plaa, G. L. : Effect of phenobarbital on the excretion of an exogenous bilirubin load. *Biochem. Pharmacol.* 16 : 827 - 835, 1967.

11) 菊谷豊産 : 近代醫學における 生藥治療の地位, 月刊藥事, 10 : 1663 - 1667, 1968.

12) 梁河元 : 茵陳合劑治療 傳染性 肝炎與肝硬變的療効, 中華內科雜誌, 11 : 1055 - 1058, 1959.

13) 湖南醫藥工業研究所, 中醫研究院中藥研究所 : 濱蒿利膽有效成分的研究. II. 提出物的氣仿溶部分, 中草藥通訊, 5 : 22 - 23, 1972.