

인공배양한 동충하초(*Cordyceps sinensis*)균실체의 생체안전성과 간기능보호작용에 대한 연구

문학민, 김윤희

동충하초(*Cordyceps sinensis*)는 자낭균문(Ascomycota) 자낭균강(Ascomycetes) 육좌균목(Hypocreales) 맥각균과(Clavicipitaceae) 벌레버섯속(*Cordyceps*)에 속하는 약용버섯으로서 해발고가 3 000m이상인 히말라야산줄기에서 박쥐나비벌레유충을 숙주로 하여 자란다. 동충하초에 들어있는 코르디세핀을 비롯한 생리활성물질들은 강한 항비루스작용을 나타내면서도 간조직의 손상을 줄이고 그 섬유화를 막는 기능을 수행한다.[1]

우리는 세계적으로 천연동충하초가 고갈되고있는 조건에서 미생물공학적으로 동충하초균실체를 인공배양하였으며 그 생체안전성과 간기능보호효과를 검토하였다.

재료와 방법

재료로는 배양온도 20℃, 접종량 10%(v/v), 통기량 8L/min의 배양조건에서 7일동안 액체배양한 동충하초(*Cordyceps sinensis* 9128)의 마른 균실체와 5달나이의 흰생쥐(몸질량 20~25g), 6달나이의 흰쥐(몸질량 110~150g)를 리용하였다.

시약으로는 CCl₄(《Sigma Aldrich》), 콩기름, 생리적식염수, 증류수 등을 리용하였으며 실험기구로는 자동생화학분석기(《HITACHI-7050》), 굴반사장치, 주사기, 위존데, 채혈유리모세관, 시험관 등을 리용하였다.

급성독성실험을 위하여 동충하초균실체가루의 물추출물을 흰생쥐에게 각이한 용량으로 복강내에 주사하고 다음식으로 중간치사량(LD₅₀)을 구하였다.

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(Z \times d)}{M}$$

여기서 LD₁₀₀은 절대치사량, Z는 두 린접무리의 죽은 동물수합의 절반, d는 두 린접무리에 대한 약물주입량의 차이이다. 아급성독성실험을 위하여 흰쥐에게 시료를 1.0g/kg씩 90일동안 경구주입하고 몸질량, 굴반사수, 적혈구수, 백혈구수, 헤모글로빈수(Hb), 알라닌트랜스페라제(ALT)활성, 아스파라긴산트랜스페라제(AST)활성을 측정하여 대조구와 실험구사이에 유의한 차이가 있는가를 검정하였다.

급성중독성간장애모형을 만들기 위하여 흰쥐의 잔등피하에 사염화탄소용액(CCl₄ 과 콩기름을 1 : 1로 혼합한 용액)을 0.1mL/100g씩 2일에 1번씩 3회 주사하였으며 간장애모형흰쥐의 안와정맥에서 피 2.0mL를 채혈하여 혈청을 분리한 후 자동생화학분석기로 ALT, AST활성을 측정하였다. 시료주입은 흰쥐의 피하에 사염화탄소용액을 주사하는것과 동시에 균실체가루를 하루에 0.25, 0.5, 1.0g/kg씩 7일동안 먹이는 방법으로 진행하였다. 간기능보호효과는 혈청트랜스아미나제활성, 혈청총단백질 함량, 혈청알부민/글로불린지수(A/G지수)를 검

사하는 방법으로 평가하였으며 대조약물로서 얼룩영경귀에서 얻은 플라보노이드물질인 실리마린을 리용[2]하였다.

결과 및 논의

1) 동충하초균실체의 생체안전성검사

급성독성시험 동충하초균실체가루를 흰생쥐에게 14.60~25.45g/kg의 용량으로 복강내주사하고 죽은 개체수와 산 개체수를 관찰한 결과는 표 1과 같다.

표 1에서 보는바와 같이 14.6g/kg의 용량으로 흰생쥐에게 주입하였을 때 한마리도 죽지 않았지만 25.45g/kg의 용량으로 주입하였을 때에는 100%가 죽었으므로 LD₁₀₀은 25.45g/kg이라는것을 알 수 있다. 따라서 LD₅₀을 계산한 결과 19.3g/kg이었다.

아급성독성시험 동충하초균실체가루를 흰쥐에게 하루에 1.0g/kg의 용량으로 90일동안 경구주입하고 아급성독성지표들을 검사한 결과는 표 2와 같다.

표 1. 동충하초균실체가루의 치사률

투입량 (g·kg ⁻¹)	죽은 개체수 /마리	산 개체수 /마리	Z	d
14.60	0	6	—	—
16.77	2	4	1.00	2.17
18.94	3	3	2.50	2.17
21.11	4	2	3.50	2.17
23.28	5	1	4.50	2.17
25.45	6	0	5.50	2.17

표 2. 동충하초균실체의 아급성독성검사성적

검사지표	대조구	실험구
몸질량/g	169.83±5.19	172.46±6.07
굴반사수/(회·3 ⁻¹ min ⁻¹)	9.46±0.72	9.33±0.85
적혈구/(T·L ⁻¹)	5.58±0.38	5.87±0.38
백혈구/(G·L ⁻¹)	9.25±0.81	9.63±0.78
Hb/(g·L ⁻¹)	134.77±4.63	135.65±4.95
ALT/(U·L ⁻¹)	40.50±2.83	40.00±2.83
AST/(U·L ⁻¹)	59.67±2.83	60.34±2.83

구별실험동물수 8마리

표 2에서 보는바와 같이 대조구와 실험구에서 검사지표들인 몸질량, 굴반사수, 적혈구, Hb, ALT, AST검사값들에서 유의한 차이가 인정되지 않았다.

급성독성시험결과 인공배양한 동충하초균실체의 LD₅₀은 19.30g/kg으로서 의약품관정기준에 따르면 보통약으로 평가되며 아급성독성시험의 결과 동충하초균실체는 하루에 1.0g/kg으로 90일동안 주입하여도 생체의 안전에 그 어떤 영향을 주지 않는다는것을 알 수 있다.

2) 동충하초균실체의 간보호작용

동충하초균실체가 혈청트랜스아미나제활성에 미치는 영향 동충하초균실체가 중독성간장애 모형흰쥐의 혈청트랜스아미나제활성에 미치는 영향을 검사한 결과는 표 3과 같다. 표 3에서 정상대조구는 중독성간장애가 유도되지 않은 정상흰쥐무리이고 중독모형구는 중독성간장애가 유도되었지만 약물을 주입하지 않은 흰쥐무리, 실험구는 중독성간장애가 유도되고 동충하초균실체를 해당한 용량으로 주입한 흰쥐무리, 대조구는 중독성간장애가 유도되고 실리마린을 해당한 용량으로 주입한 흰쥐무리이다.

표 3에서 보는바와 같이 중독모형구의 ALT활성값과 AST활성값은 정상대조구의 활성값들에 비하여 유의적으로 높았으며($p<0.01$) 이로부터 CCl₄에 의하여 흰쥐에 중독성간장애가

표 3. 동충하초균실체가 ALT와 AST활성에 미치는 영향

무리	약용량 (g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	ALT활성 (U·L ⁻¹)	AST활성 (U·L ⁻¹)
정상대조구	—	37.45±5.43	63.63±7.87
중독모형구	—	134.53±14.76 [△]	187.85±14.65 [△]
실험구	0.25	106.48±11.41	168.71±15.76
	0.50	82.65±8.75*	153.68±11.56*
	1.00	79.64±9.76*	143.58±9.34*
대조구	0.04	67.42±7.67**	127.31±11.74**

구별실험동물수 8마리, △ $p < 0.01$ (정상대조구와 비교),

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (중독모형구와 비교)

성공적으로 유도되었다는 것을 알 수 있다.

실험구와 중독모형구를 대비하면 0.25g/(kg·d)용량의 동충하초균실체가루를 적용한 무리에서는 ALT활성값과 AST활성값들이 중독모형구와 유의한 차이가 없었지만 0.5, 1.0g/(kg·d)의 용량을 적용한 무리에서는 중독모형구와 유의하게 차이났다($p < 0.05$) 대조구에서도 중독모형구에 비하여 실험값이 유의하게 낮아졌다($p < 0.01$) 이로부터 동충하초균실체가 중독성간장애모형흰쥐

에서 높아진 혈청트랜스아미나제활성을 낮추는 작용을 한다는 것을 알 수 있다.

동충하초균실체가 혈청총단백질함량에 미치는 영향 동충하초균실체가 중독성간장애모형흰쥐의 혈청총단백질함량에 미치는 영향을 검사한 결과는 표 4와 같다.

표 4에서 보는바와 같이 중독모형구의 혈청총단백질함량은 정상대조구보다 유의하게 낮았는데 이것은 흰쥐에 중독성간장애가 발생되었다는 것을 보여준다. 또한 실험구의 모든 용량에서 중독모형구에 비하여 혈청총단백질함량이 유의하게 높았으며 동충하초균실체의 주입용량이 많아짐에 따라 혈청총단백질함량이 높아지는 경향성이 나타났다. 대조구에서도 중독모형구에 비하여 혈청총단백질함량이 유의하게 높았다. 이로부터 동충하초균실체는 중독성간장애모형흰쥐에서 낮아진 혈청총단백질함량을 높이는 작용을 한다는 것을 알 수 있다.

동충하초균실체가 혈청A/G지수에 미치는 영향 동충하초균실체가 중독성간장애모형흰쥐의 혈청A/G지수에 미치는 영향을 검사한 결과는 표 5와 같다.

표 5에서 보는바와 같이 중독모형구에서 정상대조구에 비하여 혈청알부민량이 유의하게 적어지고 글로불린량은 많아짐으로써 결국 혈청A/G지수는 낮아졌다. 이로부터 흰쥐에 중독성간장애가 발생하였다는 것을 알 수 있다. 또한 각이한 용량의 실험구에서 보면 중독모형구에 비하여 혈청알부민량은 유의하게 많아졌고($p < 0.01$) 글로불린량은 적어졌으며 혈청A/G지수는 높아졌고 동충하초균실체의 적용량이 많아지면서 혈청알부민량이 정상대조구의 값과 유사하게 변화되었다. 대조구에서도 중독모형구보다 혈청A/G지수가 높아졌다. 이로부터 동충하초균실체는 중독성간장애모형흰쥐에서 낮아진 혈청A/G지수를 높이는 작용을 한다는 것을 알 수 있다.

표 4. 동충하초균실체가 혈청총단백질 함량에 미치는 영향

구분	용량 (g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹)	혈청총단백질 함량 (g·dL ⁻¹)
정상대조구	—	6.72±0.13
중독모형구	—	5.83±0.23 [△]
실험구	0.25	6.35±0.25**
	0.50	6.44±0.34**
	1.00	6.55±0.23**
대조구	0.04	6.85±0.47**

구별실험동물수 8마리, △ $p < 0.01$ (정상대조구와 비교), ** $p < 0.01$ (중독모형구와 비교)

표 5. 동충하초균실체가 혈청A/G지수에 미치는 영향

구분	용량 /($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	알부민 /($\text{g} \cdot \text{dL}^{-1}$)	글로불린 /($\text{g} \cdot \text{dL}^{-1}$)	혈청 A/G
정상대조구	—	3.67 ± 0.36	3.05 ± 0.34	1.20
중독모형구	—	$2.58 \pm 0.16^{\Delta}$	3.25 ± 0.18	0.79
	0.25	$3.17 \pm 0.13^{**}$	3.18 ± 0.16	0.99
실험구	0.50	$3.25 \pm 0.17^{**}$	3.19 ± 0.19	1.02
	1.00	$3.37 \pm 0.17^{**}$	3.18 ± 0.19	1.05
대조구	0.04	$3.56 \pm 0.21^{**}$	3.13 ± 0.24	1.13

구별실험동물수 8마리, Δ $p < 0.01$ (정상대조구와 비교), $**$ $p < 0.01$ (중독모형구와 비교)

맺는 말

1) 인공배양한 동충하초균실체의 LD₅₀은 19.3g/kg이며 흰쥐에게 1.0g/(kg·d)의 용량으로 90 일동안 주입하였을 때 대조구와 실험구에서 검사지표들인 몸질량, 굴반사수, 적혈구수, Hb, ALT, AST의 검사값에서 유의한 차이가 인정되지 않았다.

2) 급성중독성간장애모형흰쥐에게 동충하초균실체를 0.25, 0.50, 1.00g/(kg·d)의 용량으로 주입할 때 평균ALT활성을 134.53U/L로부터 각각 106.48, 82.65, 79.64U/L, 평균AST활성을 187.85U/L로부터 각각 168.71, 153.68, 143.58U/L로 낮추었으며 평균혈청총단백질함량을 5.83g/dL로부터 각각 6.35, 6.44, 6.55g/dL, 혈청A/G지수를 0.79로부터 각각 0.99, 1.02, 1.05로 높였다.

참고 문헌

- [1] Y. Liu et al.; Alternat. Med., 25, 1, 2015.
- [2] F. H. Li et al.; Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 31, 1968, 2006.

주제108(2019)년 1월 5일 원고접수

On *in vivo* Toxicity and Liver Protection Effect of Mycelium of *Cordyceps sinensis* cultured Artificially

Mun Hak Min, Kim Yun Hui

The medium lethal dose (LD₅₀) of cordyceps mycelium was 19.3/kg and the differences of test result of body weight, number of hole reflection, red blood cells, hemoglobin, ALT and AST were not significant in test and control group when the mycelium was administered to mouse.

As the result that cordyceps mycelium was administered to acute hepatitis rat model with the amount of 0.25, 0.5 and 1.0g/(kg·d), the average levels of ALT were decreased from 134.53U/L to 106.48, 82.65 and 79.64U/L, levels of AST were decreased from 187.85U/L to 168.71, 153.68 and 143.58U/L, average serum levels were increased from 5.83g/dL to 6.35, 6.44 and 6.55g/dL and serum A/G indexes were increased from 0.79 to 0.99, 1.02 and 1.05 respectively.

Key words: *Cordyceps sinensis*, mycelium, toxicity, liver protection