

한약수치에 관한 연구(제5보)
수치에 의한 감초의 성분변화 및 생리활성

김남재,* 홍남두¹

경희대학교 동서의학연구소, ¹한국신약 방촌천연약물연구소

Studies on the Processing of Crude Drugs (V)
-On the Constituents and Biological Activities
of Glycyrrhizae Radix by Processing-

Nam-Jae Kim* and Nam-Doo Hong¹

East-West Medical Research Institute, Kyung-Hee University, Seoul 130-702, Korea; and

¹Natural Products Research Institute of Bangchon, Hankooksinyak Co. Ltd,

Daejeon 302-243, Korea

Abstract - In order to characterize the chemical change of the constituents and pharmacological transformation of Glycyrrhizae Radix (GR) which may occur during its processing, processed GR has been investigated in comparison with unprocessed GR. It was found that glycyrrhizin (GL) and other several constituents contained in GR were remarkably changed by processing, and the decrease of contents of GL was identified by making use of thin layer chromatography-chromatoscanner. And also, it was found that glycyrrhetic acid (GA) was identified from processed GR. We recognized that commonly processed GR showed less hemolytic effect than unprocessed GR and processed GR at 190 °C. It was also found that commonly processed GR showed more effective analgesic effect and prolonged the duration of hypnosis induced by pentobarbital-Na in mice as compared with corresponding unprocessed GR and processed GR at 190 °C. And then, commonly processed GR significantly suppressed the increases of s-GOT, s-GPT and s-LDH activities in injured mice induced by CCl₄.

Key words - crude drug processing: *Glycyrrhiza glabra* L.: Leguminosae: Glycyrrhizae Radix: glycyrrhizin: antilipoperoxidation: liver protective: GOT: GPT: LDH.

감초(Glycyrrhizae Radix)는 한국을 비롯하여 중국, 일본 등에서 매우 중요한 한방약물이며 한방 처방 중에서 가장 높은 빈도로 처방되어지는 약물이다.¹⁾ 감초는 주로 진통·진경약, 진해, 거담약, 소화기성 궤양치료약, glycyrrhizin 제조원료로 이용되고 한방에서는 완하, 진통, 해독 등을 목표로 경련

통, 복통, 근육통, 인후통 등에 폭넓게 이용되며 대표적인 처방은 작약감초탕, 소시호탕, 소청룡탕, 갈근탕, 구감초탕 등이다.²⁻⁶⁾

감초 성분으로는 saponin으로 glycyrrhizin, licorice-saponin류, flavonoid류로 liquiritin, isoliquiritin, licoridin, glabrene, 2-methyl-7-hydroxyisoflavone등, 다당류로 glycyrrhizan UA, UB, UC, GA, 이밖에 liqcoumarin, glu-

*교신저자 : Fax 02-966-2801

Glucose, sucrose, mannitol, asparagine 등이 분리되고되었다.⁴⁻⁶⁾

감초의 효능은 화중완급(和中緩急), 윤페(潤肺), 해독, 조화제약(調和諸藥)이며, 한편 감초는 수치한 감초(자감초)와 수치하지 않은 감초로 나누어 임상에서 이용하고 있다. 그 효능을 살펴 보면 후자는 주로 치인후종통(治咽喉腫痛), 소화성 궤양, 응저창양(癰疽瘡瘍), 해약독(解藥毒), 식물중독(食物中毒) 등, 전자는 치비위허약(治脾胃虛弱), 식소(食少), 복통변당(腹痛便瀉), 노권발열(勞倦發熱), 폐위해수(肺萎咳嗽), 심계(心悸), 경간(驚癇) 등에 활용하고 있는 것으로 기록되어 있다.^{7,8)}

감초의 수치방법은 일반적으로 열을 가하여 굵은 방법으로 불에 굵거나 잿불에 묻어서 굵은 것을 자(炙)감초라 한다. 또한 약간 검은 빛을 띠 때까지 가열하는 것을 초초(炒焦)감초라고도 하고, 감초를 술에 담갔다가 썰서(酒蒸) 사용하기도 한다.⁸⁾

감초는 「자(炙)」를 하면 감초의 점액질이 감소하게 되며, 감초는 매우 달기 때문에 사람에게 따라서 위에 소화되지 않고 남아 있지만 자(炙)하여 점액질을 감소시키면 시원하게 하여 위에 남아 있지 않도록 한다. 그래서 감초를 인후통 등에 사용할 경우에는 점액질이 필요하기 때문에 「자(炙)」하지 않은 것을 사용한다.⁹⁾

저자 등은 한약의 수치에 의한 물리화학적 및 생물학적 활성의 변화를 추구하고자 하는 연구의 일환으로 한방에서 널리 이용되고 있는 감초가 증상에 따라서 감초를 그대로 혹은 수치를 행한 자(炙)감초를 구분하여 증(證)에 맞추어 사용하고 있는 점에 착안하여 본 실험에 착수하였다.

전보¹⁰⁾에서 glycyrrhizin을 열처리하면 glycyrrhizin이 분해됨을 보고한 바 있으며 glycyrrhizin은 감초의 주성분이므로 감초의 수치에 의한 감초 성분의 변화 및 약리활성의 변화를 추구하고자 감초 및 수치감초의 성분변화를 검토하기 위해 TLC pattern 분석을 행하였고, 약리활성의 변화를 검토하고자 *in vitro*에서 용혈작용과 과산화지질형성정해에 미치는 영향을 검토하였다. 또한 감초중의 glycyrrhizin 및 그 유도체가 간장해 보호활성이 있음이 보고된¹¹⁾ 바 있어 사염화탄소의 간장해에 대한 보호효과 및 중추신경계에 대한 작용으로 초산법에 의한 진통작용과 pentobarbital-Na 병용투여

에 대한 수면시간 연장에 미치는 작용 등을 검토하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료 - 본 실험에서 사용한 감초, glycyrrhizin(GL), glycyrrhetic acid(GA), pre-coated silicagel TLC plate 등 실험재료 및 시약은 전보¹⁰⁾와 동일한 것을 사용하였으며, sodium thiobarbiturate는 Sigm Co.사, 혈청 중 GOT·GPT 측정용 시약과 LDH 측정용 시약은 아산제약(주)의 kit시약을 사용하였다.

기기 - Gas chromatograph(GC)는 United Technologies Packard의 Model 439, ultrasonicator는 Heat System사, TLC scanner는 Shimadzu사의 CS-9100 dual wavelength scanner, 감압농축기는 Tokyo Rikakikai사의 NE-1, Freeze Dryer는 Tokyo Rikakikai사의 ED-1, spectrophotometer는 Shimadzu사의 UV-160A를 이용하였다.

실험동물 - 본 실험에서 사용한 실험동물은 중앙동물사육장으로 부터 구입한 ICR계 체중 18~22g의 웅성 생쥐, Sprague-Dawley계 체중 180~220g의 웅성 흰쥐 및 체중 2.5~3.0kg의 웅성 가토를 사용하였고, 사료는 삼양유지(주)의 소동물용 고품 사료로 사육하였으며 물은 충분히 공급하면서 실험실 환경에 2주간 순응시킨 후에 사용하였다. 특별히 명시하지 않는 한 실험은 24±2°C에서 실시하였다.

수치 감초의 조제 - 전보¹⁰⁾에 준하여 감초 분말(Sample-A)를 상법에 따라 수치한 자(炙)감초(Sample-B), 감초 분말을 160°C로 가열하여 얻은 수치감초(Sample-C) 및 190°C로 가열하여 얻은 수치감초(Sample-D)를 각각 시료로 사용하였다.

수치감초의 TLC pattern 분석 - 각 시료 Sample-A, Sample-B, Sample-C, Sample-D를 각각 5g을 정밀히 취하여 증류수 50ml를 가하여 초음파 추출기로 20분간 초음파 추출하였다. 추출액을 원심분리로 3,000 rpm에서 20분간 원심분리하고 상등액을 여지로 여과한 여액과 잔류물에 다시 증류수를 가하여 세척하여 여과한 여액을 합하여 정확하게 50ml로 하여 이 중 일부를 TLC pattern분석용 검체로 하였다. 다시 여액 40ml를 정확히 취해 분

액여두에 옮기고 ethylacetate 40 ml로 3회 추출하여 ethylacetate층을 합쳐 증류수로 세척하고 탈수한 후 감압농축하여 MeOH 2 ml를 정확히 가하여 녹여 TLC pattern분석용 검체로 하였다.

물층의 검체는 pre-coated된 silicagel plate에 각 시료용액과 표준품 glycyrrhizin(GL, 10 mg → 10 ml)을 각각 5 µl씩 spot하고 전개용매 acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O(4:1:6:1)을 이용하여 상법에 따라 전개시킨 후 용매를 dry oven에서 충분히 휘산시킨 다음 uv lamp하에서 chromatogram과 TLC scanner로 λ 265 nm에서 zig-zag scanning하였다. 이 plate를 다시 황산발색(105 °C에서 15분간 가열)하여 TLC chromatogram을 얻었으며, TLC scanner로 λ 445 nm에서 scanning하여 고유 TLC scanning pattern을 얻었다.

또한 ethylacetate 추출 검체는 각각 10 µl씩 spot하고 전개용매 CHCl₃/petroleum ether/acetic acid(8:6:1)을 이용하여 상법에 따라 전개시킨 후 용매를 dry oven에서 충분히 휘산시킨 다음 uv lamp 254 nm하에서 TLC chromatogram을 얻었다. 그리고 이 plate를 다시 황산-anisaldehyde 시액으로 발색(105 °C에서 15분간 가열)하여 TLC chromatogram을 얻었다.

검체의 조제 - 수치지 않 감초(Sample-A), 상법에 따라 수치한 자(炙)감초(Sample-B) 및 상기의 TLC pattern분석에서 성분변화를 확실하게 알 수 있는 190 °C로 가열 수치한 감초(Sample-D)를 각각 500 g을 취하여 증류수를 가하고 환류하면서 2회 반복추출하고 여과한 여액을 감압농축기로 농축하고 동결건조기로 건조하여 약리활성시험용 검체로 사용하였다.

용혈작용 - 백색 가토를 이용하여 heparin처리한 주사기로 심장 채혈하여 눈금이 있는 원심분리관에 옮기고 상법에 따라 원심분리하여 상청액을 버리고 생리식염수로 3회 세척하여 적혈구를 얻었다. 원심분리관에 남아 있는 적혈구 체적(packaged volume)의 약 10배량의 생리식염수로 부유시켰다. 검체를 필요로 하는 농도로 생리식염수로 희석시켜 시험관에 10 ml씩 취하고 여기에 적혈구 부유액 0.5 ml를 가한 다음 38 °C에서 2시간 incubation하고 원심분리하여 상청액을 415 nm에서 흡광도를 측정하고

별도 대조로 검액의 흡광도를 측정 보정하여 용혈활성을 판정하였다.¹²⁾

과산화지질생성 억제작용 - 흰쥐를 ether로 마취시키고 복부를 절개하여 간문맥에 polyethylene tube를 삽입한 다음 4 °C로 냉각시킨 0.9% saline으로 세척한 후 간을 적출하여 즉시 칭량하고 10%가 되도록 4 °C의 phosphate buffer solution(pH 7.4)을 가하여 homogenizer로 10분간 균질화하여 homogenate 얻어 실험에 사용하였다.

지질과산화지질 생성량의 측정은 Uchiyama 등의 방법¹³⁾에 약간 변형하여 이용하였다. 즉, 필요로 하는 농도로 희석한 검액을 시험관에 0.2 ml 취하고 흰쥐의 간균질화물 0.5 ml를 가한 다음 37.0 ± 1 °C에서 30분간 incubation시켰다. 상온으로 식힌 후 1% 인산 수용액 3 ml와 0.6% thiobarbiturate (TBA)수용액 1 ml를 가하고 100 °C수욕에서 45분간 가열하여 발색시켰다. 흐르는 물에 시험관을 10분간 방치하여 냉각시킨 후 n-BuOH 4 ml 을 가하고 진탕, 혼합하여 1800 × g(4 °C)에서 10분간 원심분리하였다. n-BuOH층을 취하여 535 nm 에서 흡광도(A₅₃₅)를 측정하였다. 양성비교약물로 sodium ascorbate를 사용하였으며 지질과산화 형성저해활성을 아래식으로 부터 산출하여 저해활성을 비교 관찰하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

Sample O.D. = 시료를 가한 시험액의 흡광도

Control O.D. = 시료대신 증류수를 가한 시험액의 흡광도

초산법에 의한 진통작용 - Whittle의 방법¹⁴⁾에 준하였다. 즉 생쥐 1군을 5마리로 하여 검액 Sample-A, Sample-B, Sample-D 각각 100 mg/kg 및 200 mg/kg 씩을 각각 경구 투여한 다음 30분 후에 0.7% 초산생리식염수액 0.1 ml/10 g을 복강내 투여한 다음 10분 후 10분간의 생쥐가 나타내는 writhing syndrome의 빈도를 측정하였다. 비교약물로는 aminopyrine 100 mg/kg투여군으로 하였고 검액투여군과 비교관찰하였다.

Pentobarbital-Na의 수면시간에 미치는 영향 - 高木 등¹⁵⁾의 방법에 준하여 생쥐 1군을 10마리로 하여 검액 Sample-A, Sample-B, Sample-D 각각

100 mg/kg 및 200 mg/kg 씩을 각각 경구투여하고 60분 후에 pentobarbital-Na(엔토말, 한림제약(주)) 30 mg/kg을 복강내 주사한 후 수면시간을 측정하였다. 수면시간은 정향반사의 소실로부터 정향반사의 재출현까지의 시간으로 하였다.

사염화탄소 간장해에 대한 작용 - 생쥐 1군을 5마리로 하여 미리 24시간 절식시키고 olive oil에 용해시킨 25% CCl₄를 10 ml/kg (CCl₄로서 2.5 ml/kg)씩 경구투여하였다. 30분후에 검액 Sample-A, Sample-B, Sample-D 200 mg/kg씩을 각각 경구투여하고 따로 검액 대신 0.9% saline을 투여하여 대조군으로 하였고, CCl₄ 및 검액을 투여하지 않고 olive oil만을 경구투여하여 정상군으로 하였다. 검액투여 24시간 후에 ether로 가볍게 마취한 후에 심장채혈하여 약 30분간 방치하고 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈청을 분리하여 측정용 시료로 하였다. 양성비교약물로는 silymarin 100 mg/kg을 경구투여하여 비교관찰하였다.

혈청중 glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 glutamic pyruvic transaminase (GPT)의 효소활성도는 혈청 transaminase 측정

용 시약(GOT·GPT)을 사용하여 Reitman-Frankel법¹⁶⁾에 준하여 측정하였다. 또한 lactic dehydrogenase (LDH)의 효소활성도는 젖산탈수소 효소측정용 시약(LDH-LQ, 아산제약)을 사용하여 Wroblewski 등¹⁷⁾의 방법에 준하여 측정하였다.

결 과

TLC pattern분석 - 가열에 의하여 감초성분의 변화를 검토하고자 감초(Sample-A), 상법에 따라 수처리한 수치감초(Sample-B), GC oven에서 160 °C에서 가열하여 얻은 수치감초(Sample-D)와 190 °C에서 가열하여 얻은 수치감초(Sample-E)의 물추출물을 상법에 따라 전개용매 acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O(4:1:6:1)

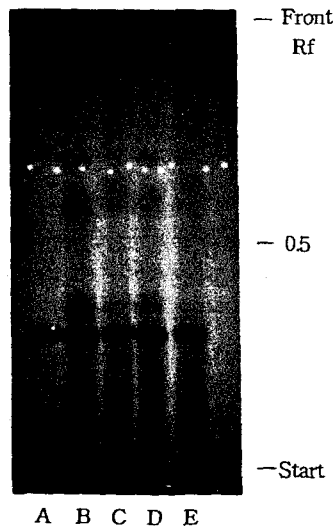


Fig. 1. TLC chromatogram of water extract of Glycyrrhizae Radix by processing. A. glycyrrhizin std; B.unprocessed Glycyrrhizae Radix; C.processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D.commonly processed Glycyrrhizae Radix; E. processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O (4:1:6:1); detector, uv 254 nm.

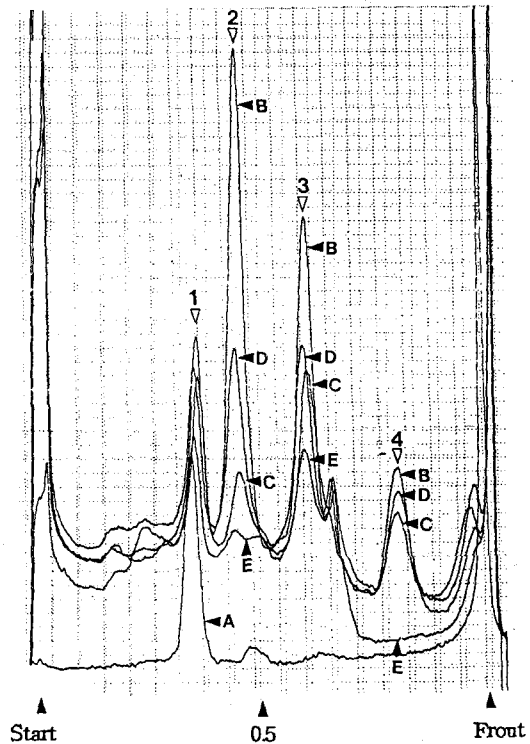


Fig. 2. Zig-zag TLC scanning profiles of water extract of Glycyrrhizae Radix by processing. A.glycyrrhizin std; B.unprocessed Glycyrrhizae Radix; C.processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D.commonly processed Glycyrrhizae Radix; E. processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O (4:1:6:1); detector, uv λ 265 nm.

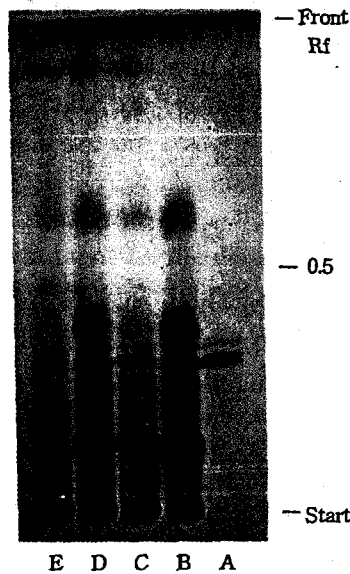


Fig. 3. TLC chromatogram of water extract of Glycyrrhizae Radix by processing. A, glycyrrhizin std; B, unprocessed Glycyrrhizae Radix; C, processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D, commonly processed Glycyrrhizae Radix; E, processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O(4:1:6:1); detector, 10% H₂SO₄(105 °C, 15 min.).

로 전개하여 uv lamp 254 nm하의 chromatogram을 Fig. 1에 제시하였고, 이를 TLC scanner로 λ S 265 nm에서 scanning한 profile을 Fig. 2에 나타내었다. 표준품 GL은 Rf 0.35에서 각 검체 공히 존재함을 알 수 있었으며, 그 량은 가열온도가 높아짐에 따라 감소됨을 알 수 있었다. 수치하므로서 감소되는 성분은 GL뿐만아니라 Fig. 1 및 Fig. 2에 나타난 바와 같이 Rf 0.44, 0.61의 각각 성분도 온도에 따라 현저히 감소됨을 알 수 있었다. 그리고 이 TLC plate를 황산시액으로 발색하여 얻은 chromatogram과 λ S 445 nm에서 scanning한 profile을 각각 Fig. 3과 Fig. 4에 제시하였다. Fig. 3과 Fig. 4에 나타난 바와 같이 발색전과 유사한 결과를 얻었으며 특히 Rf 0.24의 성분은 가열온도가 높아짐에 따라 성분함량이 현저하게 감소함을 보여 주었으며 190 °C로 가열한 Sample-D에서는 거의 존재하지 않음을 알 수 있었다.

물추출물에서는 가열처리에 의하여 성분함량의 감소만을 관찰할 수 있으나 감초 성분의 일부가

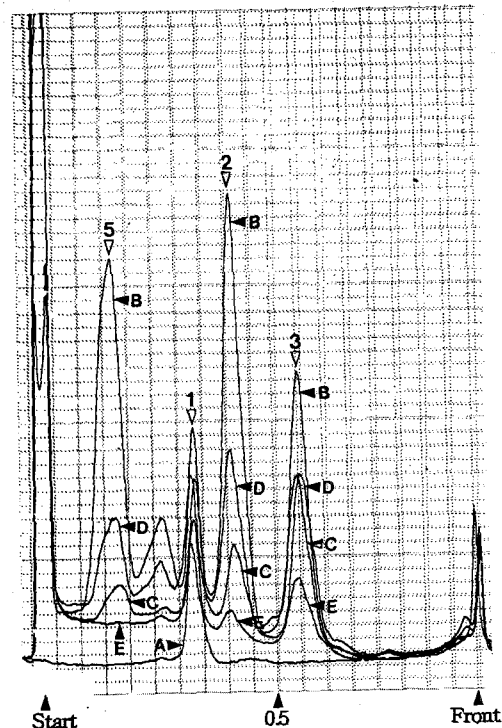


Fig. 4. Zig-zag TLC scanning profiles of water extract of Glycyrrhizae Radix by processing. A, glycyrrhizin std; B, unprocessed Glycyrrhizae Radix; C, processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D, commonly processed Glycyrrhizae Radix; E, processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O(4:1:6:1); detector, 10% H₂SO₄(105 °C, 15 min.). λ 445 nm.

transformation되어 새로운 성분이 검출될 수 있을 것으로 기대되어 물층을 ethylacetate로 분획하여 ethylacetate층을 상법에 따라 전개용매 CHCl₃/petroleum ether/acetic acid(8:6:1)로 TLC를 행하여 uv lamp하의 chromatogram과 황산-anisaldehyde 시액으로 발색시켜 얻은 chromatogram을 각각 Fig. 5와 Fig. 6에 제시하였다. Fig. 5와 Fig. 6에 나타난 바와 같이 표준품 GA (Rf 0.55)가 수치하지 않은 감초(Sample-A)에서는 관찰되지 않으나 Sample-B와 Sample-D에서는 관찰되어 감초중의 GL이 열에 의하여 GA로 전환됨을 알 수 있었다. 그리고 Fig. 5에서 Rf 0.44의 물질은 온도가 증가함에 따라 그 량이 증가됨을 보여 주었으며, Fig. 6에서는 Rf 0.23의 물질이 160 °C로 처리한 감초(Sample-D)에서 많이 검출됨을 알

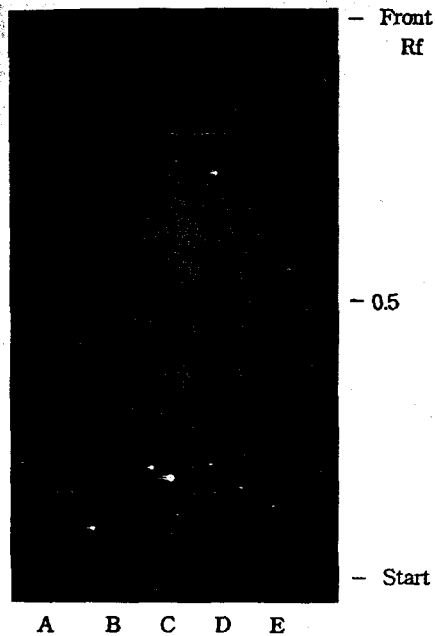


Fig. 5. TLC chromatogram of EtOAc layer of Glycyrrhizae Radix by processing. A, glycyrrhetic acid std; B, unprocessed Glycyrrhizae Radix; C, processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D, commonly processed Glycyrrhizae Radix; E, processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, CHCl₃/petroleum ether/acetic acid(8:6:1); detector, uv 254 nm.

수 있어 감초중의 일부 성분은 열에 의하여 소실되기도 하며 또한 새로운 성분이 출현됨을 알 수 있었다.

용혈효과 - 가토 전혈을 이용한 용혈시험결과를 Table I에 제시하였다. 검액 Sample-A와 Sample-D에서는 검액의 농도의존적으로 강한 용혈작용을 나타내나 검액 Sample-B는 상대적으로 매우 약한 용혈작용을 나타냄을 알 수 있었다. 특히 검액 10 mg/ml의 농도에서 검액 Sample-B는 Sample-A 또는 Sample-D에 비하여 약 10% 정도의 용혈작용만을 나타냄을 알 수 있었다.

In vitro에서 지질과산화에 미치는 효과 - 흰쥐 간균질화물에 대한 지질과산화물 형성 저해활성을 측정 한 결과를 Table II에 나타내었다. 검액 Sample-A와 Sample-B의 경우에는 검액의 농도의존적인 지질과산화물 형성저해효과를 나타내며 농도 10.0 mg/ml에서 각각 29.0%와 24.5%의 저해율을 나타내었다. 반면에 검액 Sample-D의 경우 저농도에서는 별다른 영향을 미치지 못하였으며 10.0 mg/

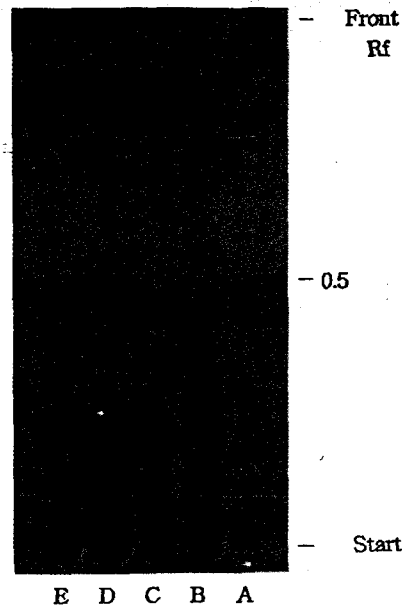


Fig. 6. TLC chromatogram of EtOAc layer of Glycyrrhizae Radix by processing. A, glycyrrhetic acid std; B, unprocessed Glycyrrhizae Radix; C, processed Glycyrrhizae Radix at 160 °C; D, commonly processed Glycyrrhizae Radix; E, processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C; solvent, CHCl₃/petroleum ether/acetic acid(8:6:1); detector, H₂SO₄-anisaldehyde reagent(105 °C, 15 min.).

Table I. Hemolytic effects of Glycyrrhizae Radix and processed Glycyrrhizae Radix

Sample	Conc.(mg/ml)	Absorbance (415 nm)
Control	-	0.039
Sample-A	1.25	0.161
	2.5	0.564
	5.0	0.701
	10.0	0.855
Sample-B	1.25	0.046
	2.5	0.059
	5.0	0.071
	10.0	0.080
Sample-D	1.25	0.172
	2.5	0.182
	5.0	0.718
	10.0	0.918

Absorbance represents the mean value of triplicate experiments. Sample-A: unprocessed Glycyrrhizae Radix. Sample-B: commonly processed Glycyrrhizae Radix. Sample-D: processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C.

ml의 농도에서는 15.5%를 보여 주었다. 양성 비교

Table II. Effects of Glycyrrhizae Radix and processed Glycyrrhizae Radix on TBA-RS formation in rat liver homogenate

Sample	Conc. (mg/ml)	Absorbance (535 nm)	Inhibition (%)
Control	-	0.355	-
Sample-A	1.25	0.340	2.8
	2.5	0.321	9.6
	5.0	0.295	16.9
	10.0	0.252	29.0
Sample-B	1.25	0.333	6.2
	2.5	0.313	11.8
	5.0	0.306	13.8
	10.0	0.268	24.5
Sample-D	1.25	0.347	2.3
	2.5	0.343	3.4
	5.0	0.331	6.8
	10.0	0.300	15.5
Ascorbate	10.0	0.106	70.1

Absorbance represents the mean value of triplicate experiments. Sample-A: unprocessed Glycyrrhizae Radix, Sample-B: commonly processed Glycyrrhizae Radix, Sample-D: processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C.

약물 sodium ascorbate 10 mg/ml은 70.1%의 지질과산화물 생성 억제효과를 나타내었다.

초산법에 의한 진통효과 - 생쥐에 생리식염수와 0.7% 초산생리식염수액을 투여한 대조군의 writhing syndrome의 빈도 38.6±1.57회/10분에 비하여 검액 Sample-A 200 mg/kg투여군에서는 21.0±1.10회/10분으로 p<0.001의 유의한 억제효과를 보이며 저농도 100 mg/kg투여군에서는 다소 억제하는 경향을 보였다. 검액 Sample-B 100 mg/kg과 200 mg/kg투여군에서는 각각 18.6±1.69회와 11.4±1.72회/10분으로 대조군에 비하여 p<0.001의 유의한 억제효과를 보여 주었다. 그리고 Sample-D 100 mg/kg과 200 mg/kg투여군에서는 각각 24.2±2.35회와 23.6±1.40회/10분으로 p<0.001의 유의한 억제효과를 관찰할 수 있었다. 양성비교약물 aminopyrine 100 mg/kg투여군에서는 10.6±1.21회/10분으로 p<0.001의 유의한 억제효과를 나타내었다(Table III).

투여한 후 수면시간을 측정할 바 생리식염수액만을 투여한 대조군에서는 47.7±2.92분에 비하여 검액 Sample-A 100 mg/kg과 200 mg/kg투여군에서

Table III. Analgesic effects of Glycyrrhizae Radix and processed Glycyrrhizae Radix on the writhing syndrome induced by acetic acid in mice

Groups	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Writhing syndrome (counts/10 min.)	Inhibition (%)
Control	-	5	38.6±1.57 ^a	-
Sample-A	100	5	32.0±3.30	17.1
Sample-A	200	5	21.0±1.10 ^{***}	45.6
Sample-B	100	5	18.6±1.69 ^{***}	51.8
Sample-B	200	5	11.4±1.72 ^{***}	70.5
Sample-D	100	5	24.2±2.35 ^{***}	37.3
Sample-D	200	5	23.6±1.49 ^{***}	38.9
Aminopyrine	100	5	10.6±1.21 ^{***}	72.5

^aMean±Standard error. Sample-A: unprocessed Glycyrrhizae Radix, Sample-B: commonly processed Glycyrrhizae Radix, Sample-D: processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C. ^{***}Statistically significant compared with control data (p<0.001).

Table IV. Effects of Glycyrrhizae Radix and processed Glycyrrhizae Radix on the duration of hypnosis induced by pentobarbital-Na in mice

Groups	Dose (mg/kg p.o)	No. of Animals	Hypnotic duration (min.)	Inhibition (%)
Control	-	10	47.7±2.92 ^a	-
Sample-A	100	10	54.8±5.82	14.9
Sample-A	200	10	56.8±4.78	19.7
Sample-B	100	10	61.9±2.26 ^{**}	29.8
Sample-B	200	10	67.2±2.69 ^{**}	40.9
Sample-D	100	10	52.8±4.96	6.9
Sample-D	200	10	40.8±4.66	-14.5

^aMean±Standard error. Sample-A: unprocessed Glycyrrhizae Radix, Sample-B: commonly processed Glycyrrhizae Radix, Sample-D: processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C. ^{**}Statistically significant compared with control data (p<0.01).

서는 대조군에 비하여 다소 수면시간을 연장시키는 작용을 보이거나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 반면에 검액 Sample-B 100 mg/kg과 200 mg/kg투여군에서는 각각 61.9±2.26분과 67.2±2.69분으로 대조군에 비하여 p<0.01의 유의한 수면시간의 연장효과를 관찰할 수 있었다. 그러나 검액 Sample-D 100 mg/kg과 200 mg/kg투여군에서 각각 52.8±4.96분과 40.8±4.66분으로 대조군에

Table V. Effects of Glycyrrhizae Radix and Processed Glycyrrhizae Radix on GOT, GPT and LDH activities on CCl₄-induced experimental liver injury in mice

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GOT	GPT	LDH
			(Karmen Units)		(Wroblewski units)
Normal	-	5	47.0±4.89	25.4±2.78	1496.0±119.1 ^a
Control	-	5	1512.0±87.1 ^{***}	1680.0±113.8 ^{***}	21784.0±1418.9 ^{***}
Sample-A	200	5	1080.0±103.5 [*]	960.0±40.0 [*]	11870.0±2046.8 ^{**}
Sample-B	200	5	904.0±206.5 [*]	1224.0±206.5	5338.0±1245.8 ^{**}
Sample-D	200	5	1520.0±81.4	1216.0±221.4	20912.0±3266.2
Silymarin	100	5	656.0±139.9 ^{***}	1130.0±143.8 [*]	13904.0±1903.3 [*]

^aMean±Standard error. Sample-A: unprocessed Glycyrrhizae Radix, Sample-B: commonly processed, Glycyrrhizae Radix, Sample-D: processed Glycyrrhizae Radix at 190 °C. ^{***}Statistically significant compared with normal data (p<0.001). ^{*}, ^{**}, ^{***}Statistically significant compared with control data (*: p<0.05, **: p<0.01 and ***: p<0.001)

비하여 별다른 차이가 없었다(Table IV).

*In vivo*에서의 CCl₄ 간독성 유발 생쥐에서 간장애 억제효과 - CCl₄를 경구투여하여 유발된 생쥐의 간독성 지표로 혈청의 transaminase(GOT, GPT) 효소활성도와 lactic dehydrogenase(LDH) 효소활성도를 측정하여 그 결과를 Table V에 제시하였다. 즉, CCl₄만을 투여한 대조군의 GOT활성도는 1512.0±87.1 Karmen unit로 정상군의 47.0±4.89 Karmen unit에 비하여 p<0.001에서 유의한 효소활성도의 상승을 보여 주었으며 검액 Sample-A와 Sample-B의 각각 200 mg/kg투여군에서는 각각 1080.0±103.5 Karmen unit와 904.0±206.5 Karmen unit로 대조군에 비하여 p<0.05에서 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었으나 검액 Sample-D 200 mg/kg투여군에서는 1520.0±81.4 Karmen unit로 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 혈청중 GPT활성도는 CCl₄만을 투여한 대조군은 1680.0±113.8 Karmen unit로 정상군의 25.4±2.78 Karmen unit에 비하여 p<0.001에서 유의한 효소활성도의 상승을 보여 주었으며 검액 Sample-A의 200 mg/kg투여군에서는 960.0±40.0 Karmen unit로 p<0.05에서 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 반면에 검액 Sample-B와 Sample-D 200 mg/kg투여군에서는 각각 1224.0±206.5 Karmen unit와 1216.0±143.8 Karmen unit로 대조군에 비하여 억제하는 경향을 보이거나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 혈청중 LDH 활성도는 CCl₄만을 투여한 대조군은 21784.0±1418.9 Wroblewski unit로 정상군의 1496.0±

119.1 Wroblewski unit에 비하여 p<0.001에서 유의한 효소활성도의 상승을 보여 주었으며 검액 Sample-A 및 Sample-B의 각각 200 mg/kg투여군에서는 각각 11870.0±2046.8 Wroblewski unit와 5338.0±1245.8 Wroblewski unit로 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 반면에 검액 Sample-D 200 mg/kg투여군에서는 20912.0±3266.2 Wroblewski unit로 대조군에 비하여 별다른 차이가 없었다. 양성대조약물로 사용한 silymarin 100 mg/kg투여군에서는 혈청중 GOT, GPT 및 LDH 효소활성도를 유의하게 억제시킴을 알 수 있었다.

고찰 및 결론

한약의 수치(修治)는 炮炙(포자)라고도 불리우며 한방약의 전통적 제약기술을 일컫는 용어라 할 수 있다. 「포(炮)」라 함은 고기를 불에 태워서 먹는 방법을 뜻하며, 「자(炙)」라 함은 불에 구워서 먹는 방법을 의미하므로 「포자(炮炙)」는 불을 이용하여 가열처리하는 방법을 뜻한다. 이러한 수치의 중요한 목적은 맛을 달리 한다든가, 약성을 변화시킨다든가, 복용의 편리하도록 하는 데에 목적이 있다고 생각되어 진다. 그리고 오랜 기간을 거쳐 경험적 사실들이 집약 발전되어 온 한방약물 및 한의학중에서도 炮炙(포자)기술은 장족의 발전을 하여 오늘날 까지도 전통약의 제약기술로서 이용되고 있다.¹⁸⁻²⁰⁾

한방에서 널리 이용되고 있으며 그 효능이 여러 연구자들에 의하여 밝혀진 바 있는 감초를 선정하

여 수치에 의해 함유된 생리활성 성분의 transformation과 transformation으로 생성된 성분에 의해 약리활성이 변화 될 것으로 사료되며 또한 한방 문헌에서도 증(證)에 따라 감초를 수치하여 사용하고 있는 점에 착안하여 초산법을 이용한 진통작용, 수면시간 연장작용, 그리고 감초가 간기능 개선에 이용되고 있어 과산화지질생성저해작용, 사염화탄소 간장해에 대한 보호작용 및 감초의 주성분이 saponin인 점에 착안하여 용혈작용 등에 미치는 감초 및 수치감초의 영향을 실험동물을 이용하여 실험을 행한 바 다음과 같은 고찰 및 결론을 얻었다.

이미 전보¹⁰⁾에서 감초중의 주요 성분중의 하나인 glycyrrhizin이 열에 의하여 변화되어 18- β -glycyrrhetic acid (GA)와 18- β -glycyrrhetic acid mono- β -D-glucuronide(GM)으로 transformation됨을 보고한 바 있어 감초를 열처리하여 감초성분이 열에 의해 transformation되는 정도를 TLC chromatogram과 zig-zag TLC scanning profile를 통하여 비교 검토하였다. 우선 감초를 실험부에 기재한 방법에 준하여 처리하여 얻은 물추출물을 전개용매 acetic acid/n-butanol/1,2-dichloromethane/H₂O(4:1:6:1)로 전개하여 uv lamp하의 chromatogram 및 TLC profile과 황산발색 후의 chromatogram과 TLC profile에서 표준품으로 사용한 GL은 모든 검체에서 검출되었으며 그 함량은 온도가 증가함에 따라 감소됨을 알 수 있었고, 그 이외의 Rf 0.24, 0.44, 0.61의 성분 역시 감소됨을 알 수 있었다. 또한 감초성분의 일부가 transformation되어 새로운 성분이 검출될 수 있을 것으로 기대되어 물층을 ethylacetate로 분획하여 ethylacetate층을 상법에 따라 전개용매 CHCl₃/petroleum ether/acetic acid(8:6:1)로 TLC를 행하여 uv lamp하의 chromatogram과 황산-anisaldehyde 시액으로 발색시켜 얻은 chromatogram을 비교 검토한 바 표준품 GA(Rf 0.55)가 수치하지 않은 감초(Sample-A)에서는 관찰되지 않아 Sample-B와 Sample-D에서는 관찰되므로 감초중의 GL이 열에 의하여 GA로 전환됨을 알 수 있었다. 그리고 Rf 0.44의 물질은 온도증가에 따라 그 양이 증가됨을 보여 주었으며, Rf 0.23의 물질이 190 °C로 처리한 감초(Sample-D)에서 많이 검출됨을 알 수 있어 감초중의 일부 성분은 열에 의하

여 소실되기도 하며 또한 새로운 성분이 발견됨을 알 수 있었다. 따라서, 수치감초중 상법에 따라 수치한 감초(Sample-B)와 고온으로 처리하여 성분변화가 심한 수치감초(Sample-D)를 생리활성검색의 시료로 이용하였다.

용혈작용은 감초나 길경과 같은 saponin함유생약의 주요한 약리작용 중의 하나이므로 감초의 물추출물의 용혈작용을 조사한 바 수치하지 않은 감초와 고온으로 처리한 수치감초에서는 강한 용혈효과를 보이나 상법에 따라 수치한 자감초에서는 용혈효과가 현저하게 감소됨이 인정되었으며 각 검액 10 mg/ml의 농도에서는 검액 Sample-B는 Sample-A나 Sample-D는 Sample-B에 비하여 약 10% 정도로 약한 용혈효과를 보여 가열에 의하여 변화된 성분들이 용혈작용에 관여하는 것으로 사료된다. Takagi, K. 등²¹⁾에 의하면 triterpene계 saponin의 용혈작용은 일반적으로 aglycone과 당 1분자가 결합된 것이 강하다고 보고한 바 있어 감초중의 용혈작용을 갖는 성분의 일부가 transformation되어 Sample-B에서는 약한 용혈작용을 나타내는 것으로 사료되며 그 활성성분에 대하여 계속 검토하고자 한다.

*In vitro*에서 지질과산화작용에 대한 검액의 효과를 TBA법에 의하여 측정하여 본 결과 검액 Sample-A와 Sample-B가 Sample-D보다는 강한 지질과산화물 생성억제효과가 인정되었다.

중추신경계에 대한 수치한 감초의 영향을 검토하고자 초산법에 의한 진통효과와 pentobarbital-Na 수면시간에 미치는 영향을 검토하였다. 우선 초산법에 의한 진통효과는 검액 Sample-A, Sample-B 및 Sample-D 공히 투여용량에서 유의한 writhing syndrome의 억제효과를 보여 주었으며 그 효과는 각 검액 공히 200 mg/kg투여군에서 대조군에 비하여 Sample-A 45.6%, Sample-B 70.5%, Sample-D 38.9%로 Sample-B 투여군은 양성비교약물 aminopyrine 100 mg/kg투여군과 유사한 효과가 인정되었으며 그 효과는 Sample-B, Sample-A, Sample-D의 순서이었다.

또한 pentobarbital-Na과 각 검액과 병용투여시 수면시간에 미치는 효과를 검토한 바 검액 Sample-B 투여군에서는 대조군에 비하여 유의한 수면시간의 연장효과가 인정되었으며 검액 Sample-A

투여군에서는 다소 연장시키는 경향을 보이거나 유의차는 인정되지 않았고, 검액 Sample-D 투여군에서는 별다른 영향을 주지 못함이 인정되었다.

감초의 효능중 간장해보호효과가 보고되어 있으며 그 활성성분의 하나가 glycyrrhizin으로 밝혀져 있다. 따라서 수치에 의하여 감초의 활성변화를 검토하고자 사염화탄소 유발간장해에 대한 검액의 효과를 검토하였다. 일반적으로 간의 microsome의 단백질 thiol기와 강하게 결합하여 막의 지질과산화 반응을 촉진해서 간에서의 단백질성억제, 간 glycogen양의 감소, 간 ATP양의 감소, 혈중에서는 GOT, GPT 등의 일탈을 일으키고 또 조직학적으로는 간세포의 지방변성, 괴사 등을 촉진하여 간장해를 유발^{22,23)}한다고 알려진 CCl₄를 투여한 생쥐에 있어서 간장해 지표로 혈청중 transaminase효소활성도와 lactic dehydrogenase효소활성도를 측정하였다. 우선 GOT활성도에 대해서 검액 Sample-A와 Sample-B 200 mg/kg투여군에서 각각 대조군에 비하여 28.6%와 40.2%의 유의한 상승억제효과를 나타내었으며, 혈청중 GOT활성도에 대해서는 검액 Sample-A 투여군에서 유의한 상승억제효과가 인정되었다. 또한 혈청중 LDH효소활성도는 검액 Sample-A와 Sample-B 200 mg/kg투여군에서 각각 대조군에 비하여 45.5%와 75.5%의 유의한 상승억제효과가 인정되었고 검액 Sample-D투여군에서는 별다른 영향을 주지 못함을 알 수 있었다. 그리고 양성비교약물 silymarin 100 mg/kg투여군에서는 혈청중 GOT, GPT 및 LDH효소활성도를 유의하게 억제시켰다.

이상의 실험결과로 미루어 보아 감초를 열처리함으로써 성분의 transformation이 일어나고 변화된 성분 등에 의하여 약리활성도 역시 변화됨을 알 수 있었다. 또한, 초산법에 의한 진통효과, pentobarbital-Na과 병용투여시 수면시간의 연장효과, 사염화탄소 간장해에 대한 간보호효과 등은 상법에 따라 수치한 수치감초가 수치하지 않은 감초에 비하여 다소 강함이 인정되었으며, 190 °C로 가열한 수치감초에서는 그 효력이 상실됨을 알 수 있어서 수치에 의하여 약효가 변화되는 것으로 사료되어 진다.

따라서, 가열온도에 따라 그 효능이 현저하게 변화되는 것이 인정되었으며 임상에서 감초를 수치하는 경우 적절한 온도에서 수치공정을 실시하여야 하

며 그 공정의 규격화가 필요하다고 생각된다. 그리고, 감초를 가열처리하므로써 감초성분의 transformation이 일어나고 변화된 성분의 조성비 등에 의하여 약리활성 전환 혹은 변화 등이 발현될 것으로 기대되어 앞으로 계속 연구하고자 한다.

사 사

이 연구의 일부는 1995년도 경희의료원 고험의학 학술연구비에 의하여 작성되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 홍문화 (1972) 한방 처방의 통계적 연구(I) 생약의 처방 출현빈도 및 기원분포. 생약학회지 3 : 57-64.
2. 동의학연구소 편저 (1994) 동약학개론. 339. 여강출판사, 서울.
3. 황도연 (1977) 대방약합편, 96. 행림출판사, 서울.
4. 北川勳, 三川潮, 庄司順三, 滝戸道夫, 友田正司, 西岡五夫 (1992) 生薬学(第4版), 233. 廣川書店, 東京.
5. 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男 (1982) 和漢薬物学, 72. 南山堂, 東京.
6. 上海科學技術出版社, 小學館 編 (1985) 中藥大辭典(第三卷), 371. 小學館, 東京
7. 진국한의과대학 본초학교수 편 (1991) 본초학, 540. 도서출판 영립사, 서울.
8. 동의학연구소 편저 (1994) 동약법제, 61. 여강출판사, 서울.
9. 大塚敬節 (1977) 漢方薬の基礎知識. 漢方醫學講座(ツムラ) 1 : 15-18.
10. 김남재, 진영호, 홍남두 (1995) 한약수치에 관한 연구(제 4보) -수치에 의한 감초중 Glycyrrhizin의 물리화학적 변화-. 생약학회지 26 : 31-39.
11. Higuchi T., Nishida K., Nagamura Y., Saito S., Ito M. and Ishiguro I. (1992) Preventive effects of glycyrrhizin and its derivatives on liver injury in mice treated with carbon tetrachloride. *Journal of Medical and Pharmaceutical Society for Wakan-Yaku* 9 : 59-65
12. 家畜薬理學教育研究會 編 (1987) 薬理學實驗, 169. 文永堂出版, 東京.
13. Uchiyama, M. and Mihara, M. (1978) Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 86 : 271-278.
14. Whittle B. A. (1964) The use of changes in ca-

- pillary permeability to distinguish between narcotic and analgesic. *Brit. J. Pharmacol.* 22: 246-253.
15. 高木敬次郎, 原田正敏 (1969) 芍薬の薬理學的研究(第一報). *日藥學雜誌* 89 : 879-886.
 16. Reitman, S. and Frankel, S. (1957) A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Path.* 28: 56-60
 17. Wroblewski, F. and J. S. LaDue (1955) Lactic dehydrogenase activity in blood. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 90 : 210-213.
 18. 北川勳, 吉川雅之 (1985) Chemical Characterization of Crude Drug Processing: On Aconiti Tuber and Ginseng Radix. *現代東洋醫學* 6: 101-110.
 19. 北川勳, 吉川雅之 (1992) 漢方藥(代謝., 29, 臨時增刊號, Processing of Chinese Traditional Medicine), 86. 中山書店, 東京.
 20. Kun-Ying Yen (1992) 漢方藥(代謝., 29, 臨時增刊號, Relationship Between Syndrome Pattern and the Process of Preparing Chinese Medicine), 108. 中山書店, 東京.
 21. Takagi, K. and Eun Bang Lee (1992) Pharmacological Studies on *Platycodon grandiflorum* A. Dc. II. Acute Toxicity and Central Depressant Activity of Crude Platycodin. *Yakugaku Zasshi* 92 : 951-960.
 22. McCay, P. B., Lai, E. K., Poyer, J. L., DuBose, C. M. and Jansen, E. G. (1984) Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. *J. Biol. Chem.* 259 : 2135-2143.
 23. Recknagel, R. O. (1967) Carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pharmacol. Rev.* 4 : 145-208.

(1996년 10월 17일 접수)