

Bromobenzene毒性에 의한 肝機能損傷에 미치는 加味五苓散의 影響

김종대

동국대학교 한의과대학 내과학교실

Influence of Gami-oryungsan on bromobenzene-induced liver injury in experimental animal

Jong-dae Kim

Dept. of Oriental Medicine, Dongguk University, Seoul, Korea

Objective : To investigate the hepatoprotective effects of Gami-oryungsan on the liver damage induced by bromobenzene.

Method : The development of fibrosis and acute liver injury was examined by the chemical analysis of AST, ALT, r-GTP, and epoxide hydrolase glutathione S-transferase glutathione peroxidase enzyme activity, lipidoperoxide levels, glutathione levels were measured and observed.

Results : The increasing levels of lipidoperoxide was decreased proportionally according to dose of extract GO. Epoxide hydrolase glutathioneS-transferase glutathione peroxidase enzyme activity highly increased in GO pre-acupunctured group compared with the group treated with only bromobenzene. The increase of serum AST, ALT, r-GTP enzyme activity of mice by bromobenzene was inhibited by the administration of GO. Lipidoperoxide levels in rat's liver decreased compared to the case of bromobenzene-treated group. The levels of Glutathione decreased by bromobenzene were increased highly in GO pre-acupunctured group.

Conclusion : These results suggest that GO extract recovers the damage of liver due to bromobenzene intoxication by decreasing the lipid peroxidation AST ALT r-GTP enzyme activity and increasing epoxide hydrolase glutathioneS-transferase glutathione peroxidase enzyme activity, glutathione levels.

Key Word : AST, ALT, r-GT, epoxide hydrolase, glutathione.

I. 緒 論

肝臟은 체내에서 가장 대사율이 높은 장기의 하나로서 안정 상태에서 몸 전체 산소 소모율의 20%를 차지한다. 간 조직은 세포내에서 일어나는 수많은 생화학적 반응을 통하여 여러가지 물질을 만들어 이들을 다른 기관에 공급하며 담즙을 생성하고 호르몬 및 약물을 대사시키는 주된 장소이다. 또한, 인체의 당질 및 지질대사를 담당하며 혈액량을

조절하고 혈액과 관련된 기능으로 조혈과 破血작용이 있으며 요소생성과 암모니아 처리로 체내외에서 생성, 유입되어 온 산물들을 수용성 형태로 바꾸어 소변으로 배출함으로써 해독작용을 담당한다¹⁾. 그러므로 간손상으로 인한 간경화, 급만성 간염등의 질환은 항상 간세포 파괴로 인한 대사이상의 문제점이 자주 대두되며 미열, 관절통, 피로감, 무기력, 식욕부진, 오심, 구토, 우측상복부 불쾌감, 황달의 증상들이 나타나는 것이

특징적이다²⁾.

이와같은 증상들은 한의학에서 疫毒, 勞倦傷, 黃疸, 脇痛, 積聚, 鼓脹 등의 증상과 유사하며 그 원인을 濕熱, 飲食不節, 勞逸失常, 情志因素, 感受疫之氣 등에 두었으며 주로 濕熱을 중요시하였고 淸熱利濕의 治法이 활용되는 경우가 많다³⁾.

加味五苓散은 利濕熱 작용이 주효능인 傷寒論의 『五苓散』⁴⁾⁵⁾ 本方に 疏肝解鬱, 淸熱利濕, 行經脈, 滲濕作用 등이 있는 柴胡, 排風藤, 靈芝, 柳根皮의⁶⁾⁷⁾⁸⁾ 네 가지 약제를 가미하여 구성된 처방으로 임상가에서 널리 사용되고 있다.

이에 저자는 淸熱利濕의 주효능을 가

교신저자 : 김종대 (경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 내과학교실, 전화 : 054)770-2384)

※ 본 연구는 동국대학교 전문학술지 논문공개 연구비 지원으로 이루어졌음

진 加味五 散이 간세포의 손상과 간장 질환의 회복에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 加味五 散 추출물을 실험동물에 전처치한 다음 생체내에서 발암작용이 있고, 간 및 신기능 등 생체 전반적으로 독성을 나타내는 맹독성 물질인 bromobenzene으로⁹⁾ 급성 독성을 유발한 후 과산화지질과 이와 관련된 여러 효소들에 미치는 영향을 검토하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥 材

본 실험에 사용한 약재는 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 그 조성은 아래와 같다.

2) 시약 및 기기

Bovine serum albumin(BSA), 1-Chloro-2,4-dinitrobenzene, glutathione reduced, nicotineamide adenine dinucleotide(NAD), sodium chloride, sodium hydroxide, thiobarbituric acid sodium salt, trans-stilbene oxide, tris base는 Sigma사로부터, nicotineamide adenine dinucleotide phosphate reduced form(NADPH)은 Kohjin사,

5, 5' -dithiobis(2-nitrobenzoic acid), trichloroacetic acid는 Nakarai 사로부터, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako pure Chemical는 Fluka 사로부터, malondialdehyde (MDA)는 Aldrich사로부터 구입한 제품을 사용하였고, 그 외 본 실험에 사용한 기타 모든 시약은 특급품 내지는 일급품을 구입하여 사용하였다.

3) 동물 및 시료의 투여

본 실험을 수행하는데 사용한 실험동물은 본 대학 동물사육장에서 온도와 습도가 일정하게 유지되는 조건으로 사육한 외관상 깨끗하고 건강하며 체중이 약 250g 내외의 웅성 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 사용하였다. 加味五茶散 추출물의 투여는 실험 동물의 체중 Kg당 90mg을 15일간 복강주사하였으며 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다. 실험동물은 실험전 16시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

2. 實驗 方法

1) 추출액의 조제

加味五茶散 15첩(810g) 분량에 3배량의 증류수를 가한 다음 100℃에서 3시간 동안 1회 추출하여 여과하고 농축하여 동결건조한 후 加味五茶散 抽出物 165g을 얻었다.

2) 급성독성 모델실험

실험동물의 급성 간독성 모델은 Gillette 등의 방법¹⁰⁾을 참조하여 bromobenzene 310mg/kg을 1일 1회 2일간 복강내로 주사하였다. 실험동물은 정상군, bromobenzene 투여 독성유발군 및 加味五茶散 전처치후 bromobenzene 투여 독성유발군 등의 세 그룹으로 분류하였으며, 한 그룹당 개체수를 5마리 이상으로 하였다.

3) 효소원의 조제

동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하고 0.9% 생리식염수로 관류시킨 간장을 적출하였다. 간 조직은 생리식염수에 깨끗이 씻은 다음 여지로 가볍게 압박하여 이물질 또는 생리식염수를 제거하였다. 간조직 1g당 4배량의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 이하 K.P. buffer로 약함)를 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상정액을 얻었다. 이 마쇄균질액으로 과산화지질 및 glutathione 함량을 측정하였다. 이것을 다시 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 상정액을 얻고 이 상정액을 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic fraction을 분리하였다. Cytosolic fraction은 epoxide hydrolase, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0-4℃에서 행하였다 (Scheme 1).

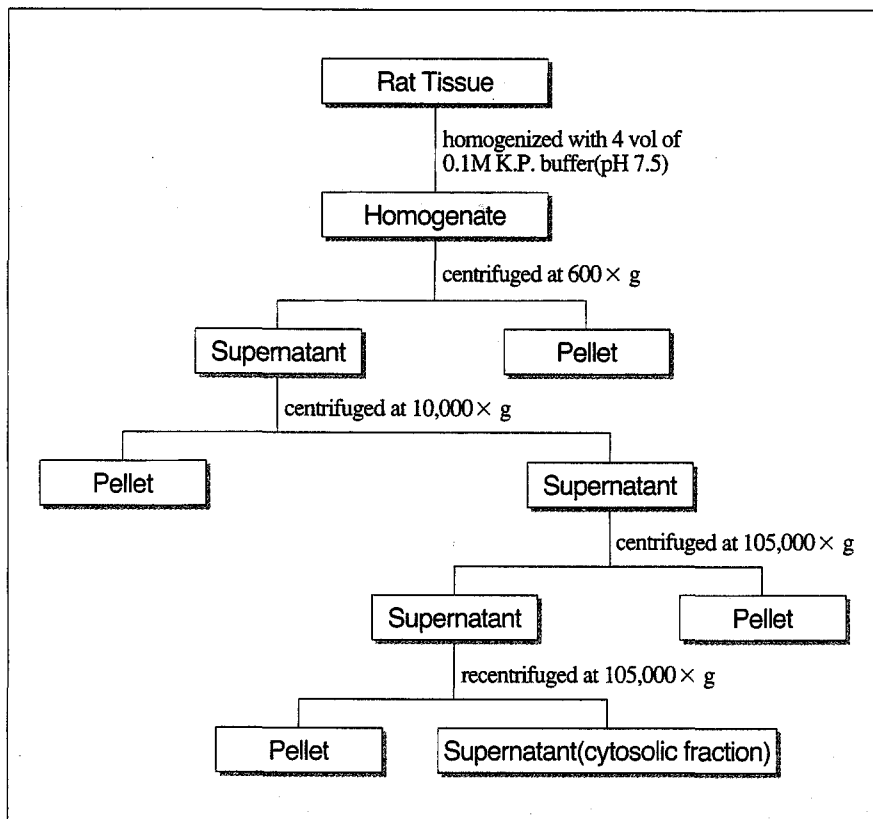
4) 효소 활성의 측정

① Epoxide hydrolase 활성 측정

Epoxide hydrolase 활성 측정은 Hammock 등의 방법¹¹⁾에 의해 실시하

* 加味五茶散

韓藥名	生藥名	重量
靈芝	Ganoderma lucidum KARST	12g
白毛藤	Solanum lyratum THUNB	12g
柳根皮	Uimus propinqua KOIDZ	6g
澤瀉	Alisma plantaGY-aguatica var. orientala SAMUELS	6g
白茯苓	Poria cocos WOLF	4g
白朮	Atractylodes macrocephala KOIDZ	4g
猪苓	Polyporus umbellatus FRIES	4g
肉桂	Cinnamomum cassia PRESL	4g
柴胡	Bupleurum falcatum L.	4g
總計		56g



Scheme 1. Preparation of enzyme source

었다. 반응액의 조성은 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.0)중에 기질로써 1mM trans-stilbene oxide, 효소액(100-200 μ g의 단백질)을 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시키고 이 때 소실되는 기질의 양을 파장 229nm에서 흡광도의 감소를 읽고 검량선에 준하여 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 기질인 trans-stilbene oxide를 소실시키는 양을 nmoles로 나타내었다.

② Glutathione S-transferase 활성 측정

Glutathione S-transferase 활성 측정은 Habig 등의 방법¹²⁾에 따라 0.1M K.P. buffer(pH 6.5) 용액 일정량에 1mM의 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 GSH를 기질로하여 효소액을 가하고 25 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시킨 다음

20% TCA로 반응을 종료시킨 후 생성된 conjugated 2,4-dinitrobenzene-GSH의 양을 340nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 생성시킨 conjugate 2,4-dinitrobenzene-GSH의 양을 nmole로 표시하였다.

③ Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase 활성 측정은 Paglia 등의 방법¹³⁾에 준하여 일정량의 0.1M Tris HCl buffer(pH 7.2) 용액에 기질인 H₂O₂, 1mM GSH, glutathione reductase(2 IU), 0.2mM NADPH 및 효소액을 첨가하여 25 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 GSSG를 환원시키는데 소비된 NADPH의 함량을 340nm에서 흡광도를 측정하여 그 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1mg의 단백질이 산화시킨 NADPH

의 양을 nmole로 나타내었다.

7) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등¹⁴⁾의 방법에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편 실험 결과의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

III. 實驗成績

1. In vitro 실험에서 加味五苓散 추출물이 간조직중 과산화지질 생성에 미치는 영향

지질의 과산화 반응을 측정하는 반응액중에 加味五苓散 추출물의 농도를 달리하면서 시험관내에 첨가시키고 생체 조건과 동일하게 반응을 진행시키기 위하여 37 $^{\circ}$ C에서 일정시간 가온한 후 간장 조직중의 과산화지질의 함량을 관찰하여 (Fig. 1)에 나타내었다. 아무것도 첨가시키지 않은 정상적인 과산화지질 측정반응조건에서는 과산화지질 함량이 17.33nmole/g of tissue이었다. 반

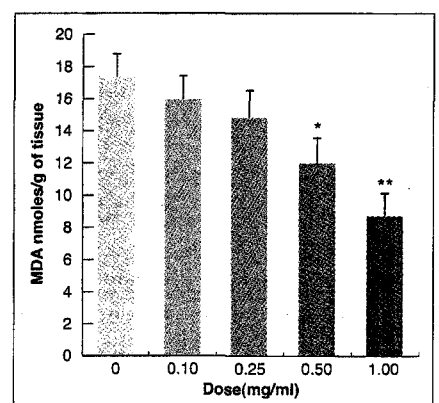


Fig 1. Effect of the extract of GO on the hepatic lipid peroxidation in vitro. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 3 separate experiments. Significantly different from control(* : P<0.05, ** : P<0.01, GO : Gami-oryungsan)

응액 중에 加味五 散 추출물의 첨가량을 증가시키면서 지질의 과산화반응을 관찰하였을 때 과산화지질의 함량은 加味五 散 추출물 첨가농도에 비례하여 과산화지질의 함량감소 현상을 나타내었으며 첨가량이 0.5mg/ml 되게 하였을 때는 과산화지질의 함량이 11.92 nmoles/g of tissue, 1mg/ml인 경우는 8.57nmoles/g of tissue로 대조치 17.33nmoles/g of tissue에 비해 유의성 있는 과산화지질의 함량감소현상을 관찰할 수 있었다.

2. 투여기간별 간장중의 과산화지질 함량변동에 미치는 加味五 散의 영향

실험동물에 加味五 散 추출물을 투여기간을 달리하면서 복강주사한 후 도살하여 간장을 적출한 다음 마쇄하여 기간별에 따른 과산화지질의 함량을 측정하는 것이 (Fig. 2)이다. 생리식염수만

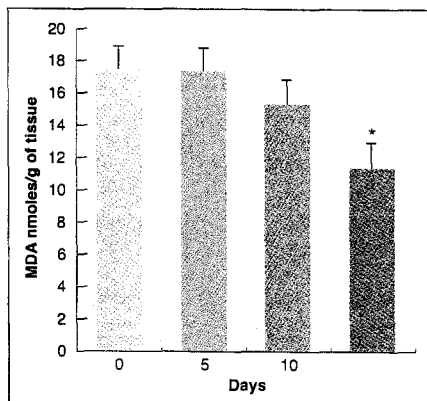


Fig 2. Effect of the extract of GO on the hepatic content of lipid peroxide in rats. Rats were received intraperitoneally with 90mg/kg of GO extract for 0-15days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. Significantly different from control group(* : $P < 0.05$).

을 투여한 대조군의 과산화지질 함량이 17.48nmoles/g of tissue 이었으나 加味五 散 추출물의 투여기간을 증가시킬수록 간장중의 과산화지질 함량이 감소되었으며 특히 투여기간을 15일로 하였을 때는 과산화지질의 함량이 11.43 nmoles/g of tissue로 생리식염수만을 투여한 대조군에 비해서 유의성있는 함량감소 현상을 관찰할 수 있었다.

3. 투여용량별 간조직중의 과산화지질의 함량변동에 미치는 加味五 散의 영향

실험동물에 加味五 散 추출물의 투여용량을 달리하면서 15일 동안 복강투여한 후 도살하여 간장을 적출한 다음 마쇄하여 간조직중의 과산화지질의 함량을 측정하는 것이 (Fig. 3)이다. 대조군의 과산화지질 함량이 17.48nmoles/g of tissue 인데 비하여 加味五 散 추출물은 투여용량을 증가시킬수록 간조직

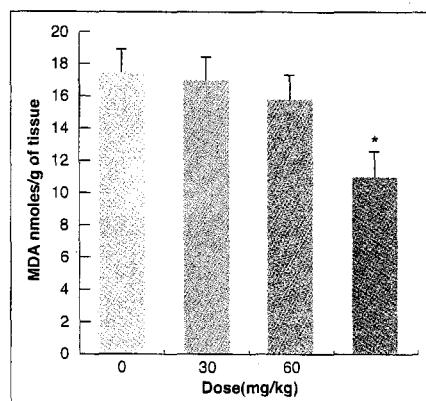


Fig 3. Effect of the extract of GO on the hepatic content of lipid peroxide in rats. Rats were received intraperitoneally with 0-90mg/kg of GO extract for 15days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. Significantly different from control group(* : $P < 0.05$).

중의 과산화지질 함량이 감소되었으며 투여용량을 90mg/kg되게 하였을 때는 간장중 과산화지질의 함량이 10.97 nmoles/g of tissue로 아무런 처치도 하지않은 대조군에 비해서 현저한 과산화지질의 함량감소가 관찰되었다.

4. Bromobenzene 급성독성 흰 쥐의 간장중 epoxide hydrolase 활성변화에 미치는 加味五 散의 영향

실험동물에 加味五 散 추출물을 15일 동안 전처치한 후 bromobenzene을 체중 kg당 310mg을 2일간 투여하여 인위적인 급성 간독성 모델을 만든 다음 도살하여 간장을 적출하여 간조직중의 epoxide hydrolase 활성변화를 관찰한 것이 (Fig. 4)이다. 여기서 나타난 것처럼 정상동물의 간조직중 epoxide hydrolase 활성은 8.23nmoles/mg protein/min이었으나 bromobenzene 간독성유발 실험군의 경우는 효소활성이 3.67nmoles/mg protein/min로 정상실험군에 비하여 현저한 활성억제 현상을 관찰할 수 있었다. 그러나 加味五 散 추출물을 15일간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 간장중 epoxide hydrolase 활성은 6.92nmoles/mg protein/min로 서 bromobenzene 유도 간독성군에 비하여 유의성있는 효소활성의 증가현상이 관찰되었으며 효소활성이 정상군의 수준으로 회복되었음을 알 수 있었다.

5. Bromobenzene 급성독성 흰 쥐의 간장중 glutathione S-transferase 활성변화에 미치는 加味五 散의 영향

加味五 散 추출물을 15일 동안 전처치한 실험동물에 bromobenzene을 체중 kg당 310mg을 2일간 투여하여 간독성

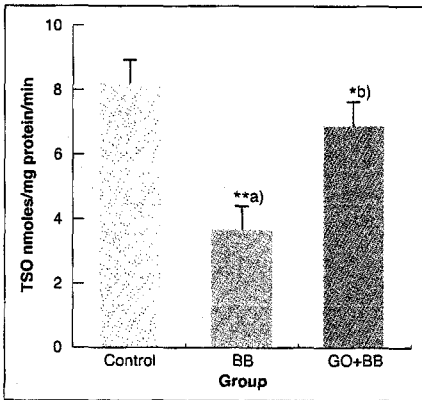


Fig 4. Effect of the extract of GO on the hepatic cytosolic epoxide hydrolase activity in acute bromobenzene-treated rats. Rats were received with GO extract(90mg/kg) intraperitoneally daily for 15days and bromobenzene(310mg/kg) for 2 days. Rats were decapitated after 16hr the last dose of bromobenzene. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. a) Significantly different from control group, b) Significantly different from bromobenzene-treated group(* : P<0.05, ** : P<0.01). BB : bromobenzene-treated group, GO : GO extract-treated group.

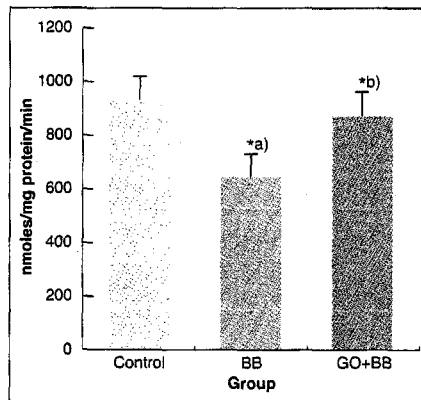


Fig 5. Effect of the extract of GO on the hepatic cytosolic glutathione S-transferase activity in acute bromobenzene-treated rats. Rats were received with GO extract(90mg/kg) intraperitoneally daily for 15days and bromobenzene (310mg/kg) for 2 days. Rats were decapitated after 16hr the last dose of bromobenzene. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. a) Significantly different from control group, b) Significantly different from bromobenzene-treated group(* : P<0.05). BB : bromobenzene-treated group, GO : GO extract-treated group.

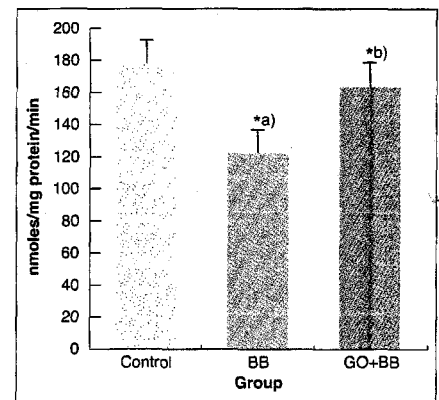


Fig 6. Effect of the extract of GO on the hepatic cytosolic glutathione peroxidase activity in acute bromobenzene-treated rats. Rats were received with GO extract(90mg/kg) intraperitoneally daily for 15days and bromobenzene(310mg/kg) for 2 days. Rats were decapitated after 16hr the last dose of bromobenzene. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. a) Significantly different from control group, b) Significantly different from bromobenzene-treated group(* : P<0.05). BB : bromobenzene-treated group, GO : GO extract-treated group.

모델을 인위적으로 만든 다음 도살하여 간장을 적출, 마쇄, 원심분리하여 효소액을 분리한 후 간조직중의 glutathione S-transferase 활성변화를 관찰한 것이 (Fig. 5)이다. Glutathione S-transferase 활성을 측정하는 반응액중에 기질과 효소액을 첨가시켜 일정시간 반응후 효소활성의 변화를 측정하였을 때 정상군의 간장중 효소활성은 935.7nmoles/mg protein/min이었으며 bromobenzene을 투여하여 간독성을 유발시킨 실험군의 경우는 효소활성이 652.6nmoles/mg protein/min로 정상동물군에 비하여 현저한 활성억제 현상이 관찰되었다. 반면

에 加味五苓散 추출물을 15일간 전처치한 후 bromobenzene을 투여한 실험군의 경우는 간장중 glutathione S-transferase 활성이 875.9nmoles/mg protein/min로서 bromobenzene 독성군에 비하여 유의성있는 효소활성의 증가 현상을 관찰할 수 있었으며 효소활성이 거의 정상동물 수준 가깝게 회복되었다.

6. Bromobenzene 급성독성 흰 쥐의 간장중 glutathione peroxidase 활성변화에 미치는 加味五苓散의 영향

실험동물에 加味五苓散 추출물을 15

일 동안 전처치한 다음 bromobenzene을 투여하여 간독성 모델을 인위적으로 만든 다음 도살하여 간장을 적출, 마쇄, 원심분리하여 효소액을 분리한 후 간조직중의 glutathione peroxidase 활성변화를 관찰한 것이 (Fig. 6)이다. 생리식염수만을 투여하고 다른 처치는 하지 않은 정상동물의 간조직중의 glutathione peroxidase 활성은 177.8 nmoles/mg protein/min이었다. 그러나 간독성 유발물질로서 bromobenzene을 투여하여 인위적인 독성을 유발시킨 실험군의 효소활성은 122.9nmoles/mg protein/min로 정상군에 비하여 현저한 활성억제

현상이 관찰되었다. 加味五苓散 추출물을 15일간 전처치한 후 bromobenzene 을 투여한 실험군은 효소활성이 163.4 nmoles/mg protein/min로서 bromobenzene 투여 독성유발군에 비하여 유의성있는 효소활성의 증가현상을 관찰할 수 있었다.

IV. 考 察

오랜 기간 동안 신체의 장기는 기능을 원활히 해야만 생명현상의 유지가 가능하다. 신체의 장기중 크기가 제일 크며 많은 기능을 담당하고 중요한 장기가 간장이다. 간장은 음식물의 소화와 흡수에 도움을 주며 외부로부터 생체내로 유입되어 온 모든물질들의 대사반응과 해독반응을 관장하는 매우 중요한 기관이다¹⁵⁾¹⁶⁾. 간장기능의 저하는 생명현상의 유지에 직접적인 영향을 미칠 정도의 치명적인 손상을 일으키기도 한다. 이러한 이유 때문에 간장에 대한 관심이 집중되어 왔으며 특히 우리나라 사람들은 간기능에 매우 세심한 관심을 기울여 왔다. 하지만 지금까지의 수많은 연구노력에도 불구하고 획기적인 간장 질환 치료제의 개발실적은 미미하다.

간손상으로 인한 간효소 수치 상승을 보이는 간경화나 급만성 간염의 증상은 미열, 관절통, 피로감, 무기력, 식욕부진, 오심, 구토, 우측상복부 불쾌감, 황달 등이며 韓醫學에서의 疫毒, 勞倦傷, 黃疸, 脇痛, 積聚, 鼓脹 등의 증상과 유사하며 그 원인을 濕熱, 飲食不節, 勞逸失常, 情志因素, 感受疫之氣, 起居不節 등으로 보았고¹²⁾ 이와 같은 病因, 症狀에 따른 治法은 清熱解毒, 利膽退黃, 疏肝理氣, 調理脾胃, 調補肝腎, 健脾益氣, 溫補脾腎 등이 있는데 面目周身黃疸, 困倦, 腹脹, 脇痛, 不欲飲, 身黃, 口苦而乾,

惡心, 嘔吐, 胸脘痞滿, 小便色黃, 舌苔黃膩, 脈弦 등의 증상이 主가 되는 肝膽濕熱의 형태일 경우에는 清熱利濕의 治法이 사용된다¹⁷⁾¹⁸⁾. 五苓散은 『仲景全書』에 처음으로 記載된 處方으로 茯苓, 澤瀉, 白朮, 肉桂 등의 藥劑로 구성되어 있으며⁴⁾ 현대 중국에서 임상실험에서 알코올성 간손상의 보호작용이 있는 것이 밝혀졌고 간경화 복수에 사용된 임상례가 있으며¹⁹⁾ 利濕熱作用이 主效能이고 臨床應用範圍로는 浮腫, 口渴, 小便不利, 惡心, 嘔吐, 眩暈, 泄瀉 등이 해당된다⁵⁾.

加減 藥物인 排風藤은 가지과에 속하며 異名은 白草, 谷菜, 白毛藤 등이고²⁰⁾ 涼血, 止血, 清熱, 利尿의 작용이 있으며 吐血, 衄血, 尿血, 熱病煩渴, 黃疸, 水腫, 熱淋澀痛 등의 症狀에 이용되며²¹⁾ 消腫, 抗癌作用, 消炎鎮痛 등의 작용이 있는 것으로 밝혀졌으며²²⁾ 연구논문에 의하면 급성전염성간염에 車前子, 金錢草, 茵陳 등과 배합하여 치료효과가 있는 것으로 밝혀졌다²³⁾. 柴胡는 性味는 微寒 無毒 味苦하고 歸經은 肝膽經이고 膽汁 배출을 증가시키고 간세포 변성과 壞死를 감소시키는 것으로 알려져 있으며²⁴⁾ 알코올성 간질환에 실험적으로 효과가 있는 것으로 나타나있다²⁵⁾. 效能은 和解退熱, 疏肝解鬱, 升舉陽氣이며²⁶⁾ 靈芝는 性味는 微溫 無毒味甘微苦하고 效能은 安心安神, 補氣益血, 止咳平喘, 滋補強壯, 解毒收斂, 消積이고 主治는 失眠多夢, 心悸怔忡, 健忘, 肺虛久咳, 咳喘, 高血壓, 高脂血症, 肝炎 등이 속한다⁷⁾. 실험에 의하며 보간 및 해독작용이 있어 사염화탄소로 유발된 중독성 간염에 회복 효과가 있는 것으로 밝혀져 있고 지방간에 치료효과가 입증되고 간세포의 재생을 촉진시키는 것으로 알려져있다²⁶⁾²⁷⁾. 또한 중추신경계, 심혈관계, 호흡기계 질환에 유효하며 抗癌과 免疫增強효과

가 있는 것으로 증명되고 있다²⁸⁾²⁹⁾.

榆根皮는 느릅나무과에 속한 낙엽교목인 느릅나무의 樹皮 및 根皮로서 甘滑下降한 성미를 가지고 歸經은 大小腸膀胱經이며 효능은 行經脈, 利諸竅, 通二便, 滲濕熱, 滑胎產, 下有形留著之物이다²⁸⁾³⁰⁾. 그러므로 전체적인 方劑의 의의가 化氣利水의 대표적 處方이라 할 수 있으며 실험적으로도 利尿作用 水分代謝 抗潰瘍作用 肝脂質抑制作用 등이 보고된바 있고 그 임상적 활용범위가 대단히 넓으므로³¹⁾ 독성물질에 의한 간손상의 치유방법을 연구하는 일환으로 저자는 한의학에서 간기능을 정상화시키는데 頻用되고 있는 처방인 加味五苓散을 이용하여 급성 간독성 모델 동물에서 간손상 회복능력을 비교 검토코자 본 실험을 행하였다.

외부로부터 체내로 유입되어온 독성물질에 의한 간기능 손상은 여러 증상으로 나타날 수 있는 데 그 중 한가지가 세포막의 구성성분의 변화를 초래하여 막의 투과성이나 유동성의 변화를 나타내어 세포독성을 유발함으로써 간조직 손상을 나타낼 수 있으며³²⁾ 세포막에 많이 존재하는 다가불포화 지방산의 산화를 촉진시켜 과산화지질의 생성을 유도할 수도 있다³³⁾. 간기능 회복의 목적으로 많이 사용되는 加味五苓散을 이용하여 시험관내에서 간조직 마쇄액으로 지질의 과산화반응에 미치는 영향을 관찰하였을 때 加味五苓散 추출물의 첨가농도에 비례하여 지질의 과산화반응을 억제시킴을 확인할 수 있었다. 그리고 이러한 작용이 생체내에서도 동일하게 나타나는 지를 관찰할 목적으로 흰쥐에 加味五苓散 추출물을 보름동안 복강투여한 후 도살하여 간장을 적출, 마쇄하여 과산화지질의 함량변화를 관찰하였을 때 加味五苓散추출물의 투여농도

및 투여기간에 비례하여 간장중의 과산화지질 함량이 감소됨을 관찰할 수 있었다. 이러한 실험결과들로 미루어 보아 加味五苓散에는 항산화작용을 지닌 성분이 함유되어있어 이 성분이 간조직중에서 세포막의 지질 과산화반응을 저해시키므로서 과산화지질에 의한 간손상을 억제하거나 손상된 간을 회복시킬 수 있을 것으로 생각 할 수 있다.

Xenobiotics의 중간대사산물이 표적 장기를 공격하여 조직손상을 일으키는 경우가 있다³⁶. Xenobiotics의 대사는 주로 간장중에서 이루어지며 이 과정에서 생성된 free radicals은 생화학적 연쇄반응으로 지질의 과산화, 핵산공격, 효소단백의 변성등을 계속 진행시키며 궁극적으로 조직손상을 유발시킨다고 알려져 있다³⁶. 대표적인 xenobiotics의 일종인 bromobenzene은 간장중의 microsomal mixed function oxidase에 의해 대사되어 독성이 강한 bromobenzene 3,4-oxide (epoxides)로 전환된 다음 간손상을 유발시키며 epoxide hydrolase 및 glutathione S-transferase에 의해서 무독화된다고 알려져 있다^{36,37}. 실험동물에 加味五苓散을 전처치한 후 bromobenzene을 투여하여 인위적인 간독성모델을 만들어 실험을 행하였다. 먼저 독성유발물질인 bromobenzene의 해독반응에 관여하는 효소들의 활성변화를 관찰하였을 때 bromobenzene에 의해서 현저하게 활성이 억제되던 epoxide hydrolase, glutathione S-transferase, glutathione peroxidase들의 효소가 加味五苓散추출물의 전처치에 의해서 거의 정상수준 가까이 회복되는 경향을 관찰할 수 있었다. 이 실험성적들로 보아 加味五苓散이 체내에서 간독성 유발물질인 bromobenzene의 대사 및 해독효소들의 활성을 증가시켜 독성물질의 체내농

도를 저하시켜 해독반응을 나타내는 것으로 유추할 수 있다.

이상의 실험결과들을 종합하여 볼 때 加味五苓散는 간독성 유발물질인 bromobenzene의 대사 및 해독반응에 관여하는 인자들의 작용을 촉진시켜 체내에서 독성반응을 나타내는 시간을 단축시켜 독성의 발현을 감소시키는 것으로 생각되며 보다 더 구체적인 내용은 앞으로 지속적인 연구를 통하여 구명되어야 할 것이다.

V. 結 論

加味五苓散의 간손상의 해독능력을 관찰하기 위하여 bromobenzene을 투여하여 급성 간독성 모델동물을 만든 다음 bromobenzene 대사 및 해독반응에 관여하는 효소활성 등을 이용하여 실험을 수행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 시험관내에서 간조직중의 지질 과산화반응을 관찰하였을 때 加味五苓散 추출물은 첨가농도에 비례하여 지질의 과산화반응을 억제시켰다.

2. 加味五苓散 추출물은 실험동물에서 투여기간과 투여용량에 비례하여 간장중 과산화지질의 함량을 감소시켰다.

3. 加味五苓散을 전처치한 후 bromobenzene독성을 유발시키고 간조직중의 해독반응에 관여하는 효소들의 활성변화를 관찰하였을 때 bromobenzene 독성유발에 의해 현저하게 감소하던 epoxide hydrolase, glutathione S-transferase 및 glutathione peroxidase 활성이 加味五苓散의 전처치에 의해 정상군 수준으로 유의성있게 회복되는 현상을 관찰할 수 있었다.

이상의 모든 실험결과들을 종합하여 볼 때 加味五苓散는 간독성 유발물질

인 bromobenzene의 대사 및 해독반응에 관여하는 인자들의 작용을 촉진시켜 체내에서 독성반응을 나타내는 시간을 단축시켜 독성의 발현을 감소시키는 것으로 생각되며 보다 더 구체적인 내용은 앞으로 지속적인 연구를 통하여 구명되어야 할 것이다.

VI. 參考文獻

1. 全國韓醫科大學 肝系內科學 교수 공저 : 肝系內科學, 東洋醫學研究院, 1992 ; 164-176
2. 의학교육연수원 : 가정의학, 서울대학교 출판부, 1996 ; 258
3. 李克光 主編 : 金 要略譯釋, 성보사, 서울, 1983 ; 57, 130-132
4. 황도연 : 大方藥合編, 행림사, 서울, 1977 ; 104-105
5. 金惠英 : 五 散의 內科의 主治症에 대한 文獻的 考察, 大韓韓方內科學會誌, 1993 ; 14(2) : 79-91
6. 洪性範 : 臨床抗癆中草藥, 성보사, 1990 ; 113-114
7. 李時珍 : 本草綱目, 人民衛生出版社, 1978 ; 2186-2187
8. 楊國藩 : 本草備要解析, 國興出版社, 中華민국, 1973 ; 360
9. Poulas, T. L. and Raag, R. : Cytochrome P450 cam : Crystallography, oxygen activation and electron transfer. *FASEB J* 1992 ; 6 : 674-679
10. Zampaglion, N., Jollow, D. J. Mitchell, J. R., Hamrick, M. and Gillette, J. R. : Role of detoxifying enzyme in bromobenzene induced liver necrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 1973 ; 187, 218-227
11. Hasegawa, L. S. and Hammock, B. D. : Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stilbene oxide as the substrate. *Biochem Pharmacol* 1982 ; 31(11) : 1979-1984
12. Habig, W. H., Pabist, M. J. and Jakoby, W. B. : Glutathione S-transferase. : The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974 ; 249, 7130-7139
13. Paglia, E. D. and Valentine, W. N. :

- Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967 ; 70, 158-169
14. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic acid and glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol* 1957 ; 28, 58
 15. Clarke, L. and Waxman, D. J. : Oxidative metabolism of cyclophosphamide : Identification of the hepatic monooxygenase catalysts o drug activation. *Cancer Res* 1989 ; 49(9) : 2344-2350
 16. Cooper, K. O., Witmer, C. M. and Wits, G. : Inhibition of microsomal cytochrome c reductase activity by a series of α,β -unsaturated aldehydes. *Biochem. Pharmacol.*, 1987 ; 36(5) : 627-631
 17. 金永勳 : 晴崗醫鑑, 신광문화사, 1990 ; 205
 18. 洪嘉禾 : 實用中醫肝病學, 上海中醫學院出版社, 上海, 1993 : 429-431, 435, 109-110.
 19. 謝鳴 : 中醫方劑現代研究(下), 學苑出版社, 北京, 1997 ; 1408-1409.
 20. 金在佺 : 원색천연물대사전, 남산당, 1984 : 151
 21. 中和人民共和國衛生部藥政管理局 : 現代實用本草(上), 人民衛生出版社, 1997 ; 282
 22. 洪性範 : 臨床抗癌中草藥, 성보사, 1990 : 113-114
 23. 總後衛生部 : 醫學技術資料, 1973 : (21) : 71
 24. 王浴生 : 中藥藥理與應用, 人民衛生出版社, 北京, 1983 : 890
 25. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館, 1983 : 392-394
 26. 北京醫學元藥理教研組 : 北京醫學元學報, 北京, 1974 ; (4) : 246
 27. 劑耕陶 : 藥學學報, 1979 ; 14(5) : 284
 28. 李尙仁, 辛民教, 盧昇鉉, 金先熙, 李瑛鍾 : 韓藥臨床應用, 서울, 성보사, 1991 ; 370, 589-590
 29. 北京市衛生局 : 中草藥製劑技術, 북경, 화학공업출판사, 1978 : 318-322
 30. 辛民教 : 임상본초학, 서울, 영림사, 1991 : 614-615
 31. 汪認庵 : 醫方集解, 文光圖書有限公司 台北 中華62년 ; 227-231
 32. Larry, W. O and Terry, B. O : Free radicals, aging and degenerative disease. Alan R. Liss. Inc. 1986 ; 325
 33. Pryor, W. A. : Free radical in biology : Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry. Elsevier, Amsterdam. 1977 ; 331-361
 34. Hayashi, O., Niki, E., Kondo, M. and Yoshikawa, T. : Medical, biochemical and chemical aspects of free radicals, Elsevier Sci Pub 1984 ; 1-9
 35. Mitchell, J. R. and Horning, M. G. : Drug metabolism and drug toxicology, Raven press, 1984 ; 23-25
 36. Hodgson, E. and Levi, P. E. : Modern toxicology, Elsevier Sci. Pub., 1987 ; 172-175
 37. Schwarz, K. : Role of vitamin E, selenium and related factors in experimental nutritional liver disease. *Fed Proc* 1965 ; 24. 58-67