

海藻丸이 甲狀腺 機能亢進症에서 抗酸化 效果에 미치는 影響

박종혁, 윤철호, 서운교, 정지천, 강정준*, 서중은*, 신억섭**

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 한서대학교 한방병원 내과*, 동국대학교 의료원 약제과**

Underlying mechanism of antioxidant action of *Haejohwan* in thyroxine-induced hyperthyroid rats

Jong-Hyuck Park, Cheol-Ho Yoon, Un-Kyo Seo, Ji-Cheon Jeong, Jeong-Jun Kang*, Jong-Eun Seo*, Uk-Seob Shin**

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

Dept. of Internal Medicine, Oriental Medical Hospital, Hanseo Univ*, Dept. of Pharmacy, Dongguk Medical Center**

This study was carried out to examine if *Haejohwan* (HJ) inhibits oxidant-induced lipid peroxidation and thereby produces protective effect against thyroxine-induced hyperthyroid rats.

Triiodothyronine (T₃), thyroxine (T₄), lipid peroxidation, xanthine oxidase activities and type conversion ratio were increased in thyroxine treated group. However, they were decreased in HJ extract's pre-applied group. Glutathione level, activities of glutathione peroxidase, glutathione S-transferase and glutathione reductase were decreased in thyroxine treated group. But, they were increased in HJ extract's pre-applied group.

These results suggest that in thyroxine-induced hyperthyroid rats HJ has an increase in the activities of oxygen free radical scavenging enzymes and inhibition of xanthine oxidase activities, and prevents lipid peroxidation.

Key Word : *Haejohwan*, hyperthyroidism, lipid peroxidation, oxygen free radical scavenging enzyme, xanthine oxidase, glutathione

1. 緒 論

갑상선 기능항진증은 갑상선 호르몬의 과잉생산 및 분비 때문에 말초조직의 대사가 항진된 상태를 말하는 것으로, 갑상선 종대·안구돌출·체온상승·심계항진·체중감소·식욕항진·신경과민·발한增加·근무력·불면증·兩手振顫·운동성호흡곤란·乏力·월경량 감소 등의 症狀이 나타난다¹⁾.

갑상선 호르몬인 thyroxine (T₄)은 생체내에서 전반적인 대사반응을 항진시켜 조직 세포에서 산소 소모량을 증가시키는데, 이때 이루어지는 생화학적 산화 반응으로 기초대사율이 현저하게 상

승된다^{2,3)}. 최근 갑상선 기능항진증은 활성산소류의 생성 증가로 인한 대사항진이 원인이라는 연구 보고가 있다^{4,5)}.

韓醫學에서 갑상선 기능항진증은 癭瘤, 癭, 兎眼, 驚悸, 怔忡 및 消渴 등⁶⁾의 범주에 속하는데 주로 癭瘤에 포함시키고 있다⁷⁾. 癭瘤의 病因으로는 痰火鬱結, 肝鬱氣滯, 氣虛血瘀, 衝任失調, 脾腎兩虛 등^{7,8)}이 있으며, 化痰軟堅, 理氣解鬱, 益氣化痰, 調和衝任, 補腎益氣 등^{7,8)}의 治法이 사용되고 있다.

본 실험에 사용된 海藻丸은 海藻와 昆布로 구성된 處方으로 證治準繩⁹⁾에 처음 기록되었다. 海藻와 昆布의 配伍는 消痰破積, 軟堅散結의 效能을 증대시킨

것으로 氣癭, 癭瘤, 膈氣噎塞 등의 치료에 活用되어 왔다⁹⁻¹¹⁾.

실험연구에 의하면 海藻玉壺湯¹²⁾, 逍遙散加味方¹³⁾, 十六味流氣飲¹⁴⁾, 炙甘草湯¹⁵⁾, 夏枯草¹⁶⁾ 등이 甲狀腺 호르몬, 콜레스테롤, cortisol 및 ALP에 미치는 영향에 대한 보고가 있으나 항산화 효과와 관련된 연구는 접하지 못하였다.

이에 著者は 海藻丸 추출물이 T₄에 의해 유도된 갑상선 기능항진상태에서 갑상선 호르몬 및 활성산소류의 생성과 분해 과정에 관여하는 효소 활성에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 약재

海藻丸 (Haejohwan)의 구성 약물은 동국대학교 부속 한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 처방 구성은 明醫指掌¹⁰⁾에 의거하였다.

2) 시약 및 기기

Bovine serum albumin (BSA), L-thyroxine sodium salt (T₄), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺), reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH), reduced glutathione (GSH), sodium dodecyl sulfate (SDS), thiobarbituric acid sodium salt, xanthine sodium salt 등은 Sigma사의 제품을, 1-chloro-2, 4-dinitrobenzene은 Wako사의 제품을, malondialdehyde (MDA)는 Aldrich사의 제품을 각각 사용하였으며, 실험동물내의 triiodthyronine (T₃)와 thyroxine (T₄)의 농도를 측정하기 위한 DYNtest T₃, T₄ Kit는 Brams Diagnostica GMBH사의 제품을, IRMA는 Diagnostic Products Corporation에서 구입하여 사용하였다. 그 외 본 실험에 사용한 모든 시약은 특급 또는 일급품을 사용하였다.

실험에 사용한 기기로는 UV spectrophotometer (SHIMADZU UV-1201), refrigerated centrifuge (Hanil Supra 22K), thermometer (Woo sung), ultracentrifuge (Hitachi 70P-72) 등을 사용하였다.

3) 동물

일정한 실내온도와 습도가 유지되는 조건에서 사육된 250g 내외의 웅성

韓名	生藥名	用量 (g)
海藻	Sargassum	40
昆布	Laminariae Thallus	40
총량		80

Sprague Dawley계 흰쥐를 사용하였다.

2. 方法

1) 약물의 조제 및 투여

海藻丸 150 g을 陰乾하여 정선한 후 MeOH을 가하고 60℃상의 수욕상에서 6시간씩 3회 반복 추출하여 메탄올 추출물 36 g을 얻었다.

실험동물은 정상군, 海藻丸군, T₄군, T₄·海藻丸군의 4개군으로 나누었다. 정상군과 T₄군은 10일간 0.9% 생리식염수 2 ml를 경구 투여하였고, 海藻丸군과 T₄·海藻丸군은 kg당 海藻丸 추출물 60 mg을 1일 1회 10일간 경구 투여하였다^{17,18)}. T₄군과 T₄·海藻丸군에는 T₄를 0.01 N KOH에 용해시켜 kg당 1 mg을 복강 내로 1일 1회, 3일간 투여하였으며, 정상군과 海藻丸군은 동량의 KOH 희석액을 복강 내로 주사하였다¹⁹⁾. 그리고, T₄를 투여한 직후에 갑상선 기능 항진 유도의 지표로 直腸 온도를 측정하였다.

2) 효소원의 조제

실험동물을 ether 마취하에 복부정중선을 따라 개복하여 복부대동맥에서 혈액을 채취한 후 생리식염수로 관류시킨 간장을 적출하였다. 적출한 간장을 생리식염수로 씻고 여지로 압박하여 이물질을 제거하였다. 조직 1 g당 4배량의 0.1 M K.P. buffer (pH 7.4)를 가하여 0-4℃에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 다음, 10,000×g에서 20분간

원심분리, 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 上澄液을 얻고 이 上澄液을 glutathione peroxidase, glutathione reductase, glutathione S-transferase, xanthine oxidase 활성 측정원으로 사용하였다.

3) 과산화지질 함량 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등²⁰⁾의 방법에 준해 조직 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95℃에서 1시간동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 과산화지질의 함량은 단백 1 mg당 MDA의 양을 nmole로 나타내었다.

4) 갑상선 호르몬의 측정

혈액내의 T₃와 T₄의 농도를 측정하기 위하여 radioimmunoassay²¹⁾인 DYNtest T₃ Kit와 DYNtest T₄ Kit를 사용하였다.

5) Xanthine dehydrogenase와 xanthine oxidase 활성 측정

Xanthine oxidase (type O) 활성 측정은 Stirpe 등²²⁾의 방법에 준해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine 60 μM 및 효소원을 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 20%

TCA를 가하여 제단백시키고 원심분리하였다. 이때 생성되어진 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 한편 xanthine dehydrogenase (type D)의 활성은 type O의 활성 측정 반응액에 coenzyme인 NAD⁺ 100 mM를 첨가해 동일하게 반응시킨 다음 측정하여 나온 활성도 (total type : type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 nmole로 나타내었다. 한편 xanthine oxidase의 형전환비 산출은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine oxidase 반응에서 얻어진 효소의 활성도를 이용하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로 의 형전환 비율을 O/O+D의 비로 산출하였다.

6) Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase 활성 측정은 Paglia 등²³⁾의 방법에 준해 일정량의 0.1 M Tris HCl buffer (pH 7.2) 용액에 기질인 H₂O₂, 1 mM GSH, GR (2 I.U.), 0.2 mM NADPH 및 효소원을 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 GSSG를 환원시키는데 소비된 NADPH의 함량을 340 nm에서 측정하여 그 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 나타내었다.

7) Glutathione S-transferase 활성 측정

Glutathione S-transferase 활성 측정은 Habig 등²⁴⁾의 방법에 준해 일정량

의 0.1 M K.P. buffer (pH 6.5) 용액에 1 mM의 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 과 GSH를 기질로 하여 효소액을 가하고 25℃에서 5분간 반응시킨 다음 20% TCA로 반응을 종료시킨 후 생성된 conjugated 2,4-dinitrobenzene-GSH의 양을 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 효소의 활성도는 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 conjugated 2,4-dinitrobenzene -GSH의 양을 μmole 로 표시하였다.

8) Glutathione reductase 활성 측정

Glutathione reductase 활성 측정은 Meiz and Langdon의 방법²⁵⁾에 준해 27 mM EDTA · Na와 16.3 mM oxidized glutathione이 함유된 0.1 M Tris · HCl buffer (pH 8.0) 용액 일정량에 6 mM NADPH를 기질로 하여 효소액을 가한 후 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 GSH를 산화시키는 데 소비된 NADPH의 함량을 340 nm에서 측정하여 그 활성을 산정하였다. 효소의 활성은 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADPH의 양을 nmole 로 나타내었다.

9) Glutathione 함량 측정

Glutathione 함량 측정은 Griffith²⁶⁾의 방법에 준해 조직 마쇄액 일정량에 8% sulfosalicylic acid를 가해 제단백시켜 얻은 上澄液 일정량에 6 mM 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), 0.3 mM NADPH, 50 units glutathione reductase를 함유한 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 7.5) 일정량을 넣고 반응시켜 생성된 p-nitrothiophenol의 흡광도를 파장 412 nm에서 측정하여 농도를 산정하였다. GSH 함

량은 조직 1 g당 함유되어 있는 GSH의 양을 μmole로 나타내었다.

10) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등²⁷⁾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. Thyroxine이 直腸 온도에 미치는 영향

정상군의 直腸 온도는 1일부터 4일까지 각각 35℃, 35.2℃, 35.3℃와 34.8℃이었으며, T₄군에서는 35.2℃, 36.7℃, 37.2℃와 36.9℃였다. T₄를 투여한 결과 直腸 온도는 2일, 3일 및 4일의 정상군에 비해 각각 약 5%, 6%, 6% 정도 유의성 있는 상승을 나타냈다 (Fig. 1).

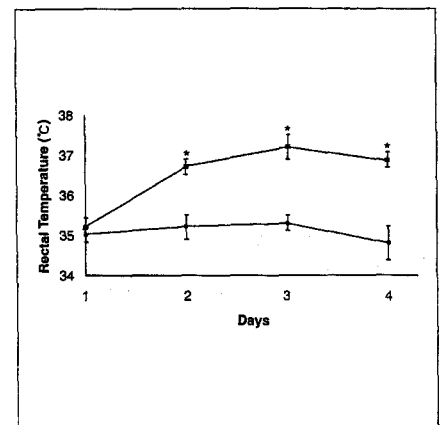


Fig. 1. Effects of thyroxine on rectal temperature. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean ± S.E. for 10 animals. Significantly different from normal (* : p<0.05). ● : normal rat. ■ : thyroxine treated rat(1mg/kg, i.p.).

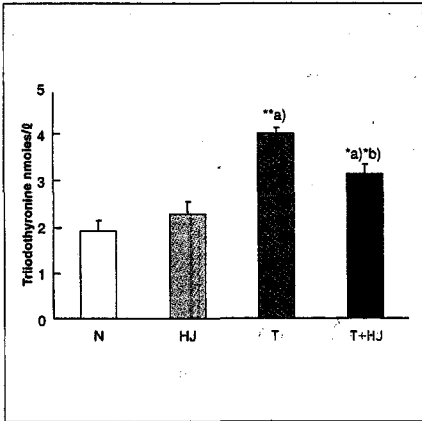


Fig. 2. Change of triiodothyronine level in rat serum *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N : normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60mg /kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1mg /kg, i.p.) treated group. T+HJ : *Haejohwan* (60mg/kg, p.o.) and thyroxine (1mg /kg, i.p.) treated group.

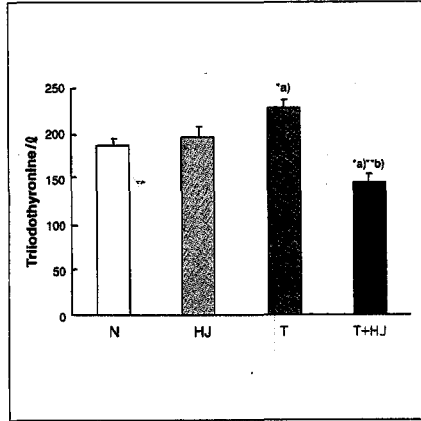


Fig. 3. Change of thyroxine level in rat serum *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N : normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ : *Haejohwan* (60mg/kg, p.o.) and thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group.

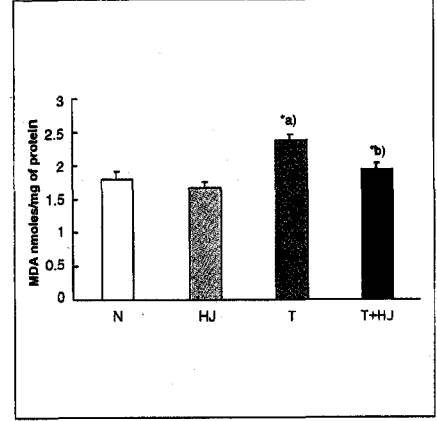


Fig. 4. Effect of *Haejohwan* methanol extract on hepatic lipid peroxide levels in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$). N : normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group. T + HJ: *Haejohwan* (60mg/kg, p.o.) and thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group.

2. Triiodothyronine의 혈중 농도에 미치는 영향

정상군의 혈중 T₃ 농도는 1.913 \pm 0.237 nmoles/l 이었으며 海藻丸군에서는 2.258 \pm 0.31 nmoles/l 이었다. T₄군의 혈중 T₃ 농도는 4.029 \pm 0.147 nmoles/l 로 나타나 정상군에 비하여 혈중 농도가 현저하게 증가하였으나, T₄· 海藻丸군에서는 3.150 \pm 0.224 nmoles/l 로 나타나 T₄군에 비해 21% 정도 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 2).

3. Thyroxine의 혈중 농도에 미치는 영향

정상군의 혈중 T₄ 농도는 187.36 \pm 4.5 nmoles/l 이었으며 海藻丸군에서는 194.31 \pm 14 nmoles/l 이었다. T₄군

의 혈중 T₄ 농도는 227.54 \pm 8.8 nmoles/l 로 나타나 정상군에 비하여 혈중 농도가 현저하게 증가하였으나, T₄· 海藻丸군에서는 147.71 \pm 10.1 nmoles/l 로 나타나 T₄군에 비해 35% 정도 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 3).

4. 과산화지질 함량에 미치는 영향

정상군의 과산화지질 함량은 1.78 \pm 0.145 nmoles/mg of protein 이었으며 海藻丸군에서는 1.66 \pm 0.051 nmoles/mg of protein 으로 나타나 정상군에 비해 유의성 있는 감소를 나타내었다. T₄의 과산화지질 함량은 2.36 \pm 0.075 nmoles/mg of protein 으로 나타나 정상군에 비해 32.6% 정도 유의성 있게 증가하였으나, T₄· 海藻丸군에서는 1.92 \pm 0.107 nmoles/mg of protein 으로 T₄

군에 비해 18.6%로 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 4).

5. Xanthine oxidase 활성 및 형 전환에 미치는 영향

정상군의 type O의 활성은 0.621 \pm 0.15 nmoles이었으며 海藻丸군에서는 0.633 \pm 0.113 nmoles로 유의한 변화를 보이지 않았다. T₄를 투여한 결과 type O의 활성은 0.733 \pm 0.152 nmoles로 나타나 정상군에 비해 18% 정도 유의성 있게 증가하였으나, T₄· 海藻丸군에서는 0.487 \pm 0.18 nmoles로 T₄군에 비해 33.6% 정도 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 5).

정상군의 total type (type D+O)의 활성은 1.057 \pm 0.025 nmoles이었으며 海藻丸군에서는 0.941 \pm 0.019 nmoles

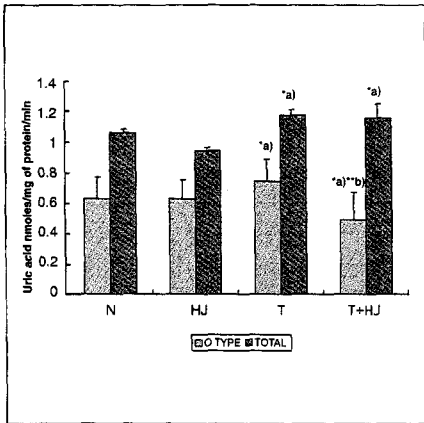


Fig. 5. Effect of Haejohwan methanol extract on hepatic xanthine oxidase activity in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: Haejohwan (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: Haejohwan (60mg/kg, p.o.) and thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group.

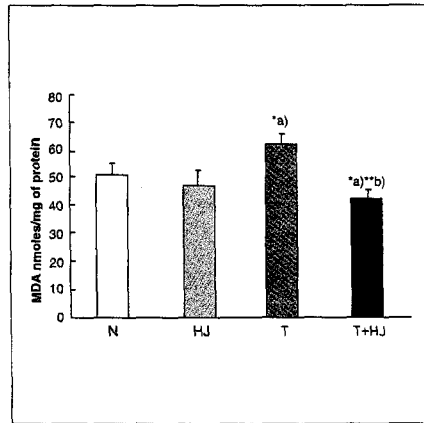


Fig. 6. Effect of Haejohwan methanol extract on hepatic xanthine oxidase type conversion ratio in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: Haejohwan (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: Haejohwan (60 mg/kg, p.o.) and thyroxine (1mg/kg, i.p.) treated group.

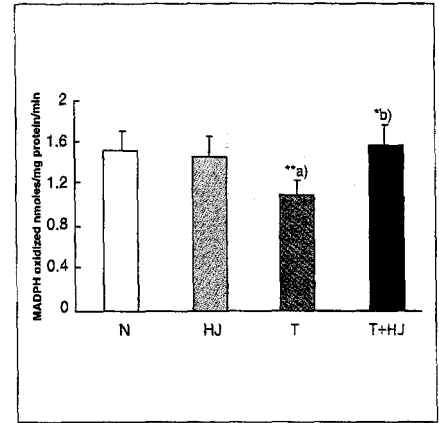


Fig. 7. Effect of Haejohwan methanol extract on hepatic glutathione peroxidase activity in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: Haejohwan (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: Haejohwan (60 mg/kg, p.o.) and thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group.

로 유의성 있게 억제되었다. T4를 투여한 결과 total type (type D+O)의 활성은 1.177 ± 0.030 nmoles로 나타나 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었다. T4 · 海藻丸군에서는 1.158 ± 0.088 nmoles로 T4군에 비해 유의한 증가 효과를 나타내었다 (Fig. 5).

정상군의 xanthine oxidase의 형전환율은 $51.32 \pm 4\%$ 이었으며 海藻丸군에서는 $47.27 \pm 5\%$ 로 유의한 변화를 보이지 않았다. T4를 투여한 결과 형전환율은 $62.28 \pm 3\%$ 로 나타나 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었으나, T4 · 海藻丸군에서는 $42.06 \pm 2\%$ 로 T4군에 비해 32.5% 정도 유의성 있게 억제되었다 (Fig. 6).

6. Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향

정상군의 glutathione peroxidase의 활성은 1.542 ± 0.152 nmoles이었으며 海藻丸군에서는 1.466 ± 0.187 nmoles로 유의한 변화를 보이지 않았다. T4를 투여한 결과 glutathione peroxidase의 활성은 1.113 ± 0.135 nmoles로 나타나 정상군에 비해 27.89% 정도 유의성 있게 억제되었으나, T4 · 海藻丸군에서는 1.580 ± 0.218 nmoles로 T4군에 비해 39.8% 정도 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 7).

7. Glutathione S-transferase 활성에 미치는 영향

정상군의 glutathione S-transferase

의 활성은 2.329 ± 0.109 μ moles이었으며 海藻丸군에서는 2.327 ± 0.11 μ moles로 유의한 변화를 보이지 않았다. T4를 투여한 결과 glutathione peroxidase의 활성은 1.221 ± 0.234 μ moles로 나타나 정상군에 비해 47.6% 정도 현저하게 억제되었으나, T4 · 海藻丸군에서는 1.439 ± 0.262 μ moles로 T4군에 비해 17.9% 정도 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 8).

8. Glutathione reductase 활성에 미치는 영향

정상군의 glutathione reductase의 활성은 2.389 ± 0.50 nmoles이었으며 海藻丸군에서는 2.059 ± 0.11 nmoles로 감소되었다. T4를 투여한 결과 gluta

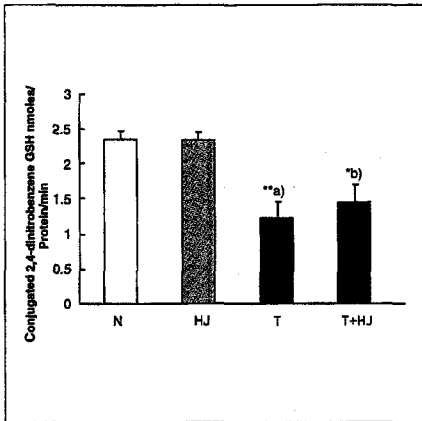


Fig. 8. Effect of *Haejohwan* methanol extract on hepatic glutathione S-transferase activity in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals: a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) and thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group.

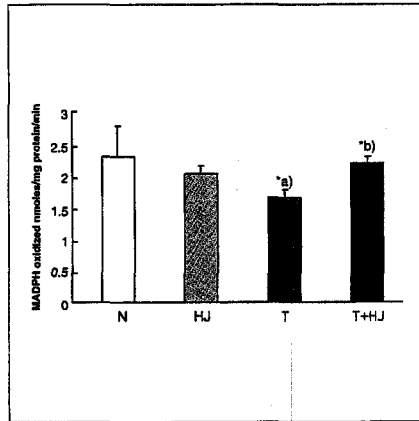


Fig. 9. Effect of *Haejohwan* methanol extract on hepatic glutathione reductase activity in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) and thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group.

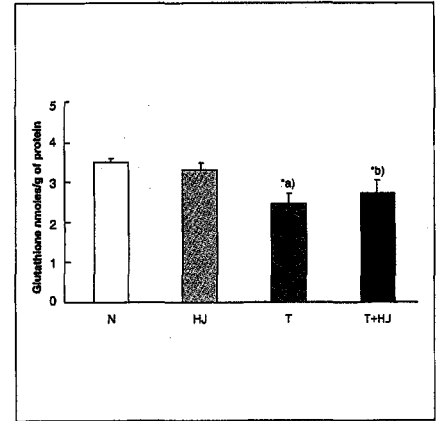


Fig. 10. Effect of *Haejohwan* methanol extract on hepatic glutathione content in thyroxine treated rat *in vivo*. The assay procedure was described in the material and method. Values are mean \pm S.E. for 10 animals. a) significantly different from normal group. b) significantly different from thyroxine-treated group (*: $p < 0.05$). N: normal (0.09% saline, p.o.) group. HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) treated group. T: thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group. T+HJ: *Haejohwan* (60 mg/kg, p.o.) and thyroxine (1 mg/kg, i.p.) treated group.

thione reductase의 활성은 1.665 ± 0.15 nmoles로 나타나 정상군에 비해 30.3% 정도 현저하게 억제되었으나, T₄·海藻丸군에서는 2.238 ± 0.14 nmoles로 T₄군에 비해 34.4% 정도 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 9).

9. Glutathione 함량에 미치는 영향

정상군의 glutathione의 함량은 3.47 ± 0.09 μ moles이었으며 海藻丸군에서는 3.34 ± 0.14 μ moles로 유의한 변화를 보이지 않았다. T₄를 투여한 결과 glutathione peroxidase의 활성은 2.47 ± 0.25 μ moles로 나타나 정상군에 비해 21% 정도 유의성 있게 감소하였으나, T₄·海藻丸군에서는 2.74 ± 0.37 μ moles로 T₄군에 비해 10.2% 정도 유의

성 있게 증가하였다 (Fig. 10).

IV. 考 察

갑상선 기능항진증은 20 ~ 40세의 여성에서 호발하고, 10세 이전이나 70세 이후에서는 극히 드물며, 여성이 남성에 비하여 4 ~ 8배 발병율이 높다²⁸⁾. 갑상선 호르몬의 과잉생산 및 분비가 原因이며 모든 물질대사에 영향을 미치기 때문에 다양한 임상증상이 나타난다¹⁾. 최근 갑상선 호르몬의 과잉 작용은 활성산소류의 생성 증가로 인한 대사항진이 원인이라는 연구 보고가 있다^{4,5)}.

활성산소에는 superoxide anion radical, hydroxyl radical (\cdot OH), hydrogen peroxide (H_2O_2), singlet

oxygen (1O_2) 등이 알려져 있으며, xanthine oxidase와 aldehyde oxidase 등에 의해서 생성이 촉진되고, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase와 glutathione reductase 등에 의해 無毒化되거나 제거된다^{25,29-31)}. 활성산소들은 생체내 정상적 대사과정에서 끊임없이 생성되어 macrophage와 백혈구에 의한 살균 작용 및 항종양 작용 등의 생체 방어 기전에 일익을 담당하고 있으나, 매우 불안정한 상태로 존재하므로 생체내의 다른 조직세포들과 쉽게 반응을 하여 조직 세포의 손상을 초래하기도 하는 양면성을 가지고 있다^{32,33)}.

이러한 활성산소들에 의한 세포손상은 조직손상으로 이어지고 갑상선 기능

항진증, 암, 중추신경계 질환, 심근경색, 급성 신부전 등 여러 가지 질병을 유발하는 것으로 보고되고 있다^{4,5,34,35}.

韓醫學에서는 症狀에 따라 갑상선이 腫大된 것은 “瘰癧”, “瘰”으로, 眼球突出은 “兔眼”으로, 심계항진· 부정맥· 운동시 호흡곤란은 “驚悸”, “怔忡”으로, 多食하고 消瘦한 것은 “消渴” 등의 範疇로 분류할 수 있으나, 대부분 頸前結核 兩側에 발생하는 病位에 근거하여 癭에 포함시키고 있다⁷.

海藻丸의 구성 약물에 대한 性味, 歸經 및 效能을 살펴보면³⁶, 海藻는 苦, 鹹, 寒, 入肝胃腎經하며 消痰結, 散癭瘤 등의 效能으로 痰涎結核, 癭瘤, 瘰癧 등을 치료하고, 昆布는 鹹, 寒, 入肝胃腎經하며 消痰結, 散癭瘤 등의 效能으로 癭瘤, 등을 치료한다. 이 두 藥物은 모두 鹹寒한 藥으로 같이 配伍하면 消痰破積, 軟堅散結의 效能이 증대되며, 최근에는 癭瘤腫塊諸症, 瘰癧痰核, 血管硬化症, 卵巢囊腫, 腸胃道癌腫 등에 응용되고 있다¹¹.

이에 著者は 海藻丸 추출물이 항산화 효과와 관련하여 갑상선 기능항진증을 개선시키는 지를 살펴보기 위하여 T₄에 의해 유도된 갑상선 기능항진상태에서 활성산소류의 생성 및 분해 과정에 관여하는 효소들의 활성 변화를 비교 관찰하였다.

海藻丸 추출물의 효과를 확인할 목적으로 海藻丸 추출물을 전처치한 후 인위적으로 갑상선 기능항진증을 유발시킨 모델동물을 만들어 효과를 검토하고자 하였다. 海藻丸 추출물을 10일 동안 투여한 후 T₄로 갑상선 기능항진증을 유발한 모델동물을 만든 다음 直腸 온도의 변화를 검토하였을 때 T₄를 투여한 후 直腸 온도가 유의성 있게 상승하였다. 이러한 실험결과는 T₄가 갑상선

기능항진증을 유도한다고 예상할 수 있다. T₃와 T₄의 변화를 검토하였을 때는 T₄군에서 현저하게 증가하던 T₃와 T₄의 농도가 T₄·海藻丸군에서는 유의성 있게 감소되었음을 확인할 수 있었다. 이러한 실험결과는 海藻丸 추출물이 체내에서 T₃와 T₄의 농도를 감소시키므로써 갑상선 기능항진증을 치료할 수 있는 것으로 사료된다.

생리조직중의 과산화지질의 함량은 생화학적 조직 손상의 척도로 널리 이용되어지며 조직의 산화적 손상에 의하여 야기되는 병리 현상의 척도로도 활용되어진다³⁷. 과산화지질은 세포막의 지질 성분이 독성물질들에 의해서 손상을 받게 되면 지질성분의 산화반응이 촉진되어 나타나는 반응산물이다^{37,38}. 이를 근거로 과산화지질 함량 변화를 관찰하였을 때, T₄군에서는 함량이 증가하였으나 T₄·海藻丸군에서는 유의성 있는 감소를 나타내었다. 이는 海藻丸 추출물의 전처치에 의하여 지질의 과산화를 방지하므로써 갑상선 기능항진증을 예방하는 것으로 사료된다.

Xanthine oxidase는 purine, pyrimidine 염기를 uric acid로 대사시키는 효소로서 생체 대부분의 조직세포에 분포하며 세포의 가용성 분획에 주로 존재하고 생체내에서는 산화반응을 촉매하는 것으로 알려져 있다³⁹. 이 효소들에 의해서 산화반응이 진행되는 동안 분자상의 산소로부터 superoxide anion이나 hydroxyl radical 같은 활성산소들이 생성된다고 보고되고 있다⁴⁰. Xanthine oxidase 활성을 관찰하였을 때 T₄군은 활성이 증가하였으며 T₄·海藻丸군에서는 활성이 유의성 있게 감소하였다. Xanthine oxidase는 정상적인 생체내에 존재할 때 type D (dehydrogenase 형)로 존재하다가 단백 분해효소

의 작용이나 허혈 상태 또는 병적 상태가 되면 type O (oxidase 형)로 형전환이 이루어지며 이때 활성산소가 생성되어진다고 보고되어 있다⁴¹. T₄·海藻丸군의 형전환율을 관찰하였을 때 T₄군에 비해 유의성 있게 감소되었다. 이는 海藻丸 추출물의 전처치가 생체내에서 xanthine oxidase의 type O 활성과 형전환을 선택적으로 억제하여 활성산소의 생성을 저해하므로 활성산소에 의한 세포손상으로부터 생체를 방어하는 작용을 나타내는 것으로 사료된다.

생체내에서 생합성되어지는 tripeptide로서 구조가 단순하면서도 활발한 생리작용을 지니고 있는 glutathione은 肝臟에서 주로 생성되며 여러 장기에 널리 분포하는 解毒物質이다³⁰. Glutathione은 외부에서부터 유입되어 들어온 毒性物質들과 쉽게 포합반응을 하여 체외로 배설시키는 생화학적 기능을 지니고 있으므로³⁰ 조직중의 glutathione 함량을 측정하므로써 독성물질에 대한 생체의 방어능력을 간접적으로 측정할 수 있다. T₄군에서 glutathione의 함량은 유의성 있게 감소하였으나 T₄·海藻丸군에서는 유의성 있게 증가하였다.

Glutathione peroxidase는 세포내 존재하는 항산화 효소로 H₂O₂를 분해하여 제거하는 작용을 가지고 있다²⁹. T₄군에서 Glutathione peroxidase의 활성이 유의성 있게 감소하였으나 T₄·海藻丸군에서는 유의성 있게 증가하였다.

Oxidized glutathione에서 활성산소류를 제거하는 기능을 가진 reduced glutathione으로 전환시키는데 관여하는 glutathione reductase²⁵의 활성에 미치는 海藻丸 추출물의 영향을 검토하였을 때 유의성 있게 증가하는 것을 관찰할 수 있었다.

Cytosolic glutathione S-transferase

는 Se independent-glutathione peroxidase의 활성을 가짐으로서 lipid peroxide를 대응하는 lipid alcohol로 무독화시키는데 관여한다³⁰. T₄·海藻丸군은 Glutathione S-transferase의 활성이 유의성 있게 증가하였음을 알 수 있었다. 이러한 실험 결과들은海藻丸 추출물 전처치가 생체내에서 활성산소류에 의해 유발될 수 있는 세포손상을 어느 정도 차단시키는 작용을 지닌 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 갑상선 기능항진증은 활성산소류의 생성을 증가시키고, glutathione과 분해효소인 glutathione peroxidase·glutathione S-transferase·glutathione reductase의 활성을 감소시켜 세포의 손상을 야기시키며, 이때海藻丸 추출물이 활성산소류의 생성을 억제하고 분해효소의 활성을 증가시키는 작용을 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 실험 결과는 향후 활성산소류의 생성 증가로 인한 갑상선 기능항진증의 病因 규명과 진단에 기여할 것으로 생각되며 추후 계속적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

海藻丸이 갑상선 기능항진증에서 항산화 작용과 관련하여 효과를 나타내는지를 검토하기 위하여 흰쥐에 thyroxine (T₄)를 투여하여 갑상선 기능항진 상태를 유발시킨 후 갑상선 호르몬과 활성산소류의 생성계 및 분해효소 활성에 미치는 영향을 관찰하였다.

T₄ 투여로 直腸 온도는 상승하였으며, triiodothyronine (T₃)와 T₄의 농도는 증가되었으나海藻丸 추출물 전처치에 의하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.

과산화지질의 함량, xanthine oxidase 활성과 형전환율은 T₄ 투여로 증가되었으나海藻丸 추출물 전처치에 의하여 유의성 있는 감소를 나타내었다. T₄ 투여로 glutathione peroxidase, glutathione S-transferase, glutathione reductase의 활성과 glutathione의 함량이 감소되었으나海藻丸 추출물 전처치에 의하여 유의성 있게 증가되었다.

VI. 參考文獻

1. 閔獻基 : 臨床內分泌學, 서울, 高麗醫學, 1990;155-171.
2. O' Riordan, J. L. H., Malan, P. G. and Gould, R. P. : Essentials of Endocrinology. Blackwell scientific Press 2nd ed., 1987;165-167.
3. Sestoft, L. : Metabolic aspects of the calorogenic effect of thyroid hormones in mammals. *Clin. Endocrinol.*, 1980; 13:489-506.
4. Pereira, B., Costa rosa, L. F. B. P., Safi, D. A., Bechara, E. J. H. and Curi, R. : Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones. *J. Endocrinology*, 1994;140:73-77.
5. Mano, T., Sinohara, R., Sawai, Y., Oda, N., Nishida, Y., Mokuno, T., Asano, K., Ho, Y., Kotake, M., Hama da, M., Nakai, A. and Nagasaka, A. : Changes in lipid peroxidation and free radical scavengers in the brain of hyper- and hypothyroid aged rats. *J. Endocrinology*, 1995;147:361-365.
6. 北京中醫院 : 漢醫學臨床病理, 서울, 成輔社, 1983;70-72.
7. 顧伯華 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, 1982;148-154.
8. 上海中醫學院 : 中醫內科學, 香港, 商務印書館, 1975;494-503.
9. 王肯堂 : 證治準繩(四), 上海, 上海科學技術出版社, 1995;409.
10. 皇甫中 : 明醫指掌, 北京, 人民衛生出版社, 1982;248.
11. 呂景山 : 施今墨對藥, 北京, 人民軍醫出版社, 1996;274.
12. 朴宰賢 : 海藻玉壺湯이 白鼠의 甲狀腺 機能亢進症에 미치는 影響, 東國大學校 大學院 碩士學位論文, 1989.
13. 孫淑英 : 逍遙散加味方이 Sodium Levothyroxine 投與로 誘發된 흰쥐의 甲狀腺機能亢進症에 미치는 影響, 慶熙大學校 大學院 碩士學位論文, 1986.
14. 鄭蓮姬, 蔡炳允 : 十六味流氣飲 및 그 加味方이 甲狀腺機能에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌, 1988;9(2):98-108.
15. 韓承東 : 炙甘草湯이 sodium levothyroxine으로 誘發된 白鼠의 甲狀腺機能亢進症에 미치는 影響, 慶山大學校 大學院 碩士學位論文, 1994.
16. 朴炳吉 : 夏枯草가 甲狀腺 機能亢進症 白鼠에 미치는 影響, 慶山大學校 大學院 碩士學位論文, 1990.
17. Thompson, M. L., Shyster, L., Casey, E. and Kanel, G. C. : Sex and strain differences in response to cocaine. *Biochem. Pharmacol.*, 1984;33(8): 1299-1307.
18. Graham, D. L. and Skett, P. : Endocrine regulation of the metabolism of 1-naphthol in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1987;242(1): 344-348.
19. Fernandez, V., Barrientos, X., Kipreos, K. and Valenzuela, A. : Superoxide radical generation, NADPH oxidase activity and cytochrome P-450 content of rat liver microsomal fractions in an experimental hyperthyroid state : relation to lipid peroxidation. *Endocrinology*, 1985;117(2):496-501.
20. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, 1979;95:351-358.
21. Bayer, M., et al. : Clinical experience with sensitive thyrotropin measurements, diagnostic and therapeutic implications. *J. Nucl. Med.*, 1985;36: 1248-1256.
22. Stirpe, F., Della Corte, E. : The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.*, 1969;244:3855-3863.
23. Paglia, E. D., Valentine, W. N. : Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin.*

- Med., 1967;70:158-169.
24. 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.
 25. Mize, C. E. and Langdon, R. G. : Hepatic glutathione reductase. I. Purification and general kinetic properties. *J. Biol. Chem.*, 1962;237: 922-928.
 26. Griffith, O. W. : Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinylpyridine. *Anal. Biochem.*, 1980; 106:207-212.
 27. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951;193:265-275.
 28. 高昌舜, 趙普衍 : 甲狀腺, 서울, 高麗醫學, 1990;31-32.
 29. Ross, D. and Moldeus, P. : Antioxidant defence systems and oxidative stress. In : Membrane Lipid Oxidation, ed. by Vigo-Pelfrey C., CRC Press, Boston, 1993;2:151-170.
 30. Ross, D. : Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents : Mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. *Pharmacol. Ther.*, 1988;37(2):231-239.
 31. Ramzi, S. C., Vinay, K. and Stanley, L. R. : Robbins pathologic basis of disease, 4th edi., W.B. Saunders Company, pp.9-12, 1989.
 32. Reiter, R. J. : Oxidative processes and antioxidative defense mechanism in the aging brain. *FASEB. J.*, 1995;9(7): 526-533.
 33. Walker, P. D. and Shah, S. V. : Evidence of the role of hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest.*, 1988;81:334-341.
 34. Floyd, R. A. : Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB. J.*, 1990;4(9):2587-2597.
 35. Halliwell, B. : Oxidants and the central nervous system : some fundamental questions. Is oxidants damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke? *Acta. Neurol. Scand.*, 1989;126:23-33.
 36. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館香港分館, 1983;486, 487.
 37. Barry, H. : Oxidants and human disease : Some new concepts, *FASEB. J.*, 1987;1:358-364.
 38. David, R. : Mechanistic toxicology : A radical perspective. *J.P harm. pharmacol.*, 1989;41:505-511.
 39. Parks, D. A. and Granger, D. N. : Xanthine oxidase : biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol. Scand.*, 1986; 538Suppl:87-99.
 40. Krenitsky, T. A., Tuttle, J. V., Cattau, E. L. and Wang, P. : A comparison of the distribution and electron acceptor specificities of xanthine oxidase and aldehyde oxidase. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1974;498:687-703.
 41. Krenitsky, T. A., Spector, T. and Hall, W. W. : Xanthine oxidase from human liver : purification and characterization. *Arch Biochem. Biophys.*, 1986;247:108-119.