

熊膽, 牛黃 및 熊黃湯이 galactosamine에 의한 흰쥐의 급성 간염에 미치는 영향

朴太灝[#], 成洛戌¹, 李暎鍾^{*}

暎園大學校 韓醫科大學 本草學教室, 1: 농촌진흥청 작물과학원

Effects of Fel Ursi, Bezoar Bovis and Ung-Whang Tang on the Galactosamine-induced Acute Hepatitis in Rats

Park, Tae-Ho[#], Seong, Nak-Sul¹, Lee, Young-Jong^{*}

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

Seongnam 461-701, Korea

1: National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Objectives : The present study attempted to reveal the effects of the combination of Fel Ursi and Bezoar on the improvement of the function of the liver, through examining the effects of Fel Ursi, Bezoar, and Woong-Whang Tang composed of Fel Ursi and Bezoar.

Method : Acute hepatitis was induced by galactosamine to rats, and then Fel Ursi, Bezoar Bovis, and Woong-Whang Tang were introjected to measure the influence of serums such as AST, ALT, ALP, γ GT, and lipid peroxide of liver tissues which are considered as the index of the function of the liver .

Results :

1. Fel Ursi decreased the lipid peroxide of ALT, γ FT, and liver tissue and that of mitochondria in liver tissues of the rats with galactosamine-induced acute hepatitis, but it did not have any significant effect on AST and ALP.
2. Bezoar Bovis decreased the lipid peroxide of AST, ALT, ALP, γ GT, and the liver tissues among serum of the rats suffering from acute hepatitis induced by galactosamine, but it did not have any significant effect on that of mitochondria of the liver tissues.
3. Woong-Whang Tang had a significant effects on the lipid peroxide of AST, ALT, ALP, γ GT, and the liver tissues, and on the decrease of lipid peroxide of mitochondria, among serum of the rats suffering from acute hepatitis induced by galactosamine.

Conclusion : Fel Ursi and Bezoar Bovis were judged to be effective on the acute hepatitis of the liver by galactosamine. In particular, Woong-Whang Tang which was composed of the combination of Fel Ursi and Bezoar Bovis was more efficient in the improvement of the function of the liver and the amount of lipid peroxide than the respective use of Fel Ursi or Bezoar Bovis.

Key words : Fel Ursi, Bezoar Bovis, Woong-Whang Tang, acute hepatitis , galactosamine

*교신저자: 이영중. 경원대학교 한의과대학 본초학교실 E-mail: garak@kyungwon.ac.kr Tel: 031-750-5415

[#]제1저자: 박태호. 경원대학교 한의과대학 본초학교실

· 접수 : 2005년 4월 9일 · 수정 : 2005년 6월 16일 · 채택 : 2005년 6월 20일

緒 論

熊黃湯은 熊膽과 牛黃의 2種 藥對로 구성되는 藥對로, 한방 임상에서 亞急性 重症 간염 치료에 응용되고 있다.¹⁾ 藥對는 對藥, 對子, 藥組, 姊妹藥, 兄弟藥 등으로도 불리는 한약 配伍의 중요한 이론 중 하나로,²⁾ 陳 등³⁾이 “藥對는 2종 한약의 배합 응용으로서 한약 配伍 중의 최소 단위이다” 라고 한 바와 같이 藥對는 처방 구성의 이론과 실제에서 매우 중요한 비중을 차지하고 있다.

熊黃湯의 구성 약물인 熊膽(Fel Ursi)은 곰科(Ursidae)에 속하는 불곰 *Ursus arctos* Linne 또는 그 밖의 근연동물의 담즙을 말린 것이며, 牛黃(Bezoar Bovis)은 소科(Bovidae)에 속하는 소(*Bos taurus* Linne var. *domesticus* Gmelin)의 담낭 중에 생긴 결석이다.⁴⁾

熊膽은 苦寒한 性味로 肝, 膽, 心, 胃 經에 들어가 淸熱解毒, 平肝明目, 殺蟲止血의 효능이 있어 濕熱黃疸, 暑濕瀉痢, 日赤翳障, 喉痺, 鼻蝕, 疔瘡, 痔漏, 疝疾과 각종 出血의 치료에 사용된다.⁵⁾ 주요성분으로 ursodeoxycholic acid(UDCA), cholic acid, deoxycholic acid, chenodeoxy cholic acid, glycocholic acid, taurocholic acid, lithocholic acid 등의 담즙산이 함유되어 있다.⁵⁾ 중국산 흑곰 *Selenarctos thibetanus* G. Cuvier 의 담낭 중에는 약 20%의 tauroursodeoxycholic acid가 함유되어 있으며 이것을 가수분해하면 taurin과 UDCA가 된다.⁶⁾ UDCA는 1952년에 유기합성되었으며, 간기능 개선, 이담작용 등의 약효가 있고, 간 및 담도질환의 예방과 치료, cholesterol 담석 용해작용에도 유용하며, 간염 치료에도 효능이 좋다고 보고된 바 있다.⁷⁻⁹⁾

牛黃은 味苦甘, 性凉하여 心, 肝經에 들어가 淸心凉肝, 豁痰開竅, 淸熱解毒의 효능이 있어 熱病으로 인한 神昏, 中風竅閉, 驚癇抽搐, 小兒急驚, 咽喉腫爛, 口舌生瘡과 癰疽腫毒 등을 치료한다.⁵⁾ 主要成分으로 bilirubin, cholic acid, deoxycholic acid, cholesterol, ergosterol, lecithine, fatty acid, 비타민 D를 함유하고 있다.⁵⁾ 牛黃의 지표성분으로 결합형 빌리루빈(C₃₃H₃₆N₄O₆)을 정량하는데 건조된 牛黃의 경우 대한약전에는 식품의약품안전청고시 제 2004-38호에서 결합형 빌리루빈 함량을 10.0%에서 20.0%이상으로 개정하였으며, 中國藥典¹⁰⁾에는 총빌리루빈으로 35.0%이상을 함유하여야 한다고 하였다.

이처럼 肝 질환에 사용되는 熊膽과 牛黃을 함께 배합하여 구성한 熊黃湯 역시 한의학에서 亞急性重症 간염 등, 肝 질환에 응용되고 있다. 熊膽과 牛黃의 배합과 관련하여 황 등¹¹⁻¹³⁾ 이 麝香, 牛黃, 熊膽 藥針이 附子로 유발된 간손상의 회복에 미치는 효과와 熊膽, 牛黃 藥針이 흰쥐의 관절염에 미치는 효과를 보고하였고, 도 등¹⁴⁾은 牛黃, 熊膽, 麝香 복합제 藥針이 생쥐의 LPS유발 關節炎에서 혈액학적 변화에 미치는 영향을 보고하였으며, 차¹⁵⁾는 熊膽, 牛黃 藥針이 생쥐 皮膚癌의 면역기능에 미치는 영향을 보고하였으나, 熊黃湯을 經口투여한 경우의 효과에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

이에 著者は 熊膽과 牛黃, 그리고 熊膽과 牛黃의 藥對로 구성된 熊黃湯이 肝臟에 미치는 효능을 구명하고자 galactosamine으로 급성간염을 유발한 흰쥐에 熊膽과 牛黃, 그리고 熊黃湯을 투여하여 간기능의 지표가 되는 혈청 중 AST, ALT, ALP, γ GT 및 간조직의 지질과산화 등에 대한 영향을 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料

1) 動物

실험동물은 체중 200~250 g의 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 대한바이오링크에서 공급받아 14日 이상 실험 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공조명설비에 의하여 조명시간을 오전 7:00부터 오후 7:00까지 12시간으로 조절하였으며, 실내온도는 22℃ 내외, 습도는 60% 내외로 유지하였다. 공급된 사료는 고형사료로, 그 조성은 단백질 21%, 지방 3.5%, 셀룰로오즈 5.0%, 무기질 8.0% 등이다. 급수는 일반 상수를 사용하였고, 사료와 급수는 제한하지 않았다.

2) 藥材

실험에 사용한 熊膽(Fel Ursi : FU)은 충북 청주에 소재한 사육농장에서 사육한 불곰 *Ursus arctos lasiotus* Gray에서 채취한 것을 사용하였고, 牛黃(Bezoar Bovis: BB)은 호주산 수입품을 구입하여 경원대학교 본초학교실에서 감정한 후 사용하였다.

熊膽과 牛黃은 물에서 초음파로 분쇄하여 녹였으며, 熊黃湯은 같은 양의 熊膽과 牛黃을 물에서 초음파로 분쇄하여 녹였으며, 실험에 사용할 때까지 냉장 보관하였다.

3) 시약 및 기기

GOT kit, GPT kit 및 ALP kit 는 영동시약 제품을 사용하였다.

원심분리기는 Vision Com.(Korea), CO₂ incubator 와 deep freezer는 Forma Company(USA), microcentrfuge는 Boeringer(Germany), ELISA reader는 BMS(USA), ultrasonicator는 Gibco(USA), larminar flow와 멸균기(autoclave)는 Sony Electronics(Japan), inverted microscope는 Hund(Germany), microdispensor는 Gilman(USA), microarray scanner는 Applied Precision Inc(USA), water bath는 Jeitech(Korea) 제품을 사용하였다.

2. 方法

1) 간독성 유발 및 시료 투여

간독성은 Murthy 등¹⁶⁾의 방법에 준하여 galactosamine을 경구투여하여 유발하였다. 대조군(control)은 4 일 동안 아무런 조치없이 사육한 다음, 5, 6 일 째에 galactosamine을 2 일 동안 경구투여 하였으며, 1 회 투여 용량은 450 mg/kg 이었다. 급성 간염 유발을 판단하기 위한 기준이 되는 정상군(normal)에는 galactosamine과 檢液을 투여하지 않았다. 檢液인 熊膽(FU), 牛黃(BB) 및 熊黃湯(FB) 등은 galactosamine 투여 4 일전부터 100 mg /kg으로 1 일 1 회 경구투여 하였으며, 5, 6 일째에는 galactosamine 투여 1시간 전, 그리고 7 일에는 검액만 투여하였으며, 각 군에 사용한 흰쥐는 각각 6 마리씩이었다.

2) 채혈 및 간장 적출

마지막 검액을 투여하고 45 분 후에 ethylether로 가볍게 마취한 다음, 심장으로 부터 채혈하였다. 채

취한 혈액은 실온에서 30 분간 방치하여 응고시킨 다음 3,000 rpm으로 15 분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 채혈 후 즉시, 간장을 적출하였다. 적출한 장기는 냉각된 생리식염수로 세척한 후 여과지로 수분과 혈액 및 기타 부착물질을 제거한 다음 -80°C에 냉동 보관하였다.

3) 간 조직의 지질과산화 측정

간 조직 절편의 무게를 측정된 다음, 5 배(w/v) 용량의 50 mM phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)을 가하여 polytron homogenizer를 이용하여 분쇄시켰다. 분쇄된 조직용액(homogenate) 0.5 mL에 7 % sodium dodecyl sulfate(SDS) 용액 0.4 mL를 가하고 37°C에서 30분 동안 incubation 시킨 다음, trichloroacetic acid(final conc. of 10%; v/v)를 가하여 단백질을 침전시켰다. 3,000 rpm에서 10 분간 원심분리한 후 상등액을 얻어 thiobarbituric acid (0.67% in 0.1 M HCl solution)를 가하여 100°C에서 20 분간 반응시킨 후, 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 간 미토콘드리아 분획 및 과산화 지질 측정

잘게 분쇄한 간에 5 배(w/v)의 50 mM phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)을 가하고 polytron homogenizer를 이용하여 균질화시켰다. 균질화한 액을 20 분간 원심분리(1,000 × g, 4°C)하여 상층액을 취하였다. 상층액을 다시 20 분간 원심분리하여(8,000 × g, 4°C) 얻은 pellet를 tris buffer(10mM Tris-HCl, 0.3mM sucrose, PH 7.4)를 사용하여 세번 세척한 다음, 0.1 mM sodium phosphate buffer(PH 7.4)에 재현탁시켜 -80°C에 냉동보관하였다. 과산화지질 측정은 전술한 방법에 따라 수행하였으며, 과산화지질 생성량은 단백질을 정량한 후 보정하였다.

5) 혈청 중 transaminase 활성도 측정

AST(aspartate aminotransferase) 및 ALT

(alanine aminotransferase)는 생화학적 kit (Youngdong Pharm. Co.)를 사용하여 측정하였다. 즉, AST(100 mL에 L-aspartic acid 2.60 mg, ketoglutaric acid 29.2 mg 함유) 및 ALT(100 mL에 D,L-alanine 1.78 mg 및 ketoglutaric acid 29.2 mg 함유) 기질액 1.0 mL를 37°C에서 AST는 60 분, ALT는 30 분간 반응시켰다. 반응 후 정색시액(100 mL에 2,4-dinitrophenylhydrazine 19.8 mg 함유) 1.0 mL를 가해 반응을 종료시킨 다음, 0.4 N NaOH 용액 10 mL 가하여 잘 혼화하고 10 분간 방치한 다음, 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소활성은 혈청 dL당 karmen unit로 표시하였다.

6) 혈청 중 ALP, γ GT 및 과산화지질의 측정

혈청 중 ALP(alkaline phosphatase)의 활성은 phosphophenol을 기질로 하여 효소반응으로 생성되는 phenol을 4-aminoantipyrine과 축합시켰을 때 유도되는 quinone을 비색정량하는 Engstrom의¹⁷⁾ 방법에 준하여 측정하였다. 이때 반응액은 기질액(100 mL 당 Na_2CO_3 0.260 g, NaHCO_3 0.168 g, phenylphosphate-2-sodium 0.19 g, 4-aminoantipyrine 0.05 g) 2.0 mL 혈청 0.05 mL를 가해 37°C에서 15 분간 반응시켰으며, 반응 후 정색시액 (100 mL당 $\text{Na}(\text{NH}_3)_2$ 0.01 g, 붕산 2.0 g, NaOH 0.128 g) 2.0 mL를 첨가하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다. 효소의 활성단위는 혈청 100 mL 포함된 ALP가 15 분 동안 유리한 phenol의 mg을 나타내는 King-Amstrong 단위로 표시하였다.

혈청 중 γ GT(gamma-glutamyltranspeptidase)의 활성은 Szasz¹⁸⁾의 법에 의해 실시하였다.

과산화지질의량은 과산화지질의 대사산물인 MDA를 thiobarbiturate (TBA)와 반응시키는 Wong 등¹⁹⁾의 방법에 따라 측정하였으며, 단백질 정량은 Bradford²⁰⁾의 방법에 따라 실시하였다.

7) Glutathione (GSH) 측정

GSH의 함량은 Baker 등²¹⁾의 방법에 따라 측정하였고, 간조직의 GSH는 다음과 같이 간조직의 분

쇄액을 준비하여 측정하였으며, 혈액의 GSH는 간조직분쇄액의 GSH측정과 동일한 방법으로 측정하였다. 잘게 절개한 간에 5 배(w/v)의 50 mM phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)을 가하고 polytron homogenizer를 이용하여 균질화시켰다. 균질화한 액을 20 분간 원심분리(1,000 × g, 4°C)하여 상층액을 취하였다. Homogenate액에 0.1% picric acid를 첨가한 다음, 3,000 rpm에서 15 분간 원심분리하였다. 상층액을 취하여 0.2 mM NADPH, 0.6 mM DTNB, 5 mM EDTA 및 glutathione reductase가 포함된 0.1 M pot, phosphate buffer(pH 7.5)를 첨가하여 412 nm에서 30 초 간격으로 3 분간 흡광치변화를 측정하였다.

3. 통계처리

실험으로부터 얻은 결과들의 실험군별 상호비교를 위한 평균치는 평균 ± 표준오차(Mean±Standard Error)로써 산출하였다. 실험군들간의 유의성 검증은 Student's t-test 분석방법을 이용하여 결정하였으며 p-value가 0.05 미만인 경우에 그 유의성을 인정하였다.

結 果

1. 혈청 중 AST에 미치는 영향

혈청 중 AST(aspartate aminotransferase; GOT)의 변화를 실험한 결과, galactosamine을 투여한 대조군의 혈청 중 AST는 116.4±2.9 units/mL로 정상군의 평균 63.0±2.2 units/mL보다 현저하게 증가하였다($p < 0.01$). 웅담(FU) 투여군은 105.5±3.9 units/mL로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으나, 우황(BB) 투여군은 88.1±2.0 units/mL로 현저하게 저하되었고($p < 0.01$), 옹황탕(FB) 투여군은 103.7±3.4 units/mL로 유의성 있게 저하되었다($p < 0.05$). 즉, 웅담 투여군은 별다른 영향이 없었고, 우황 투여군은 현저하게 저하되었으며, 옹황탕 투여군은 유의하게 저하되었다(Table I).

Table I. Effects of FU, BB and FB on Serum AST in Galactosamine-intoxicated Rats

Contents	Serum AST ^{a)} (units/mL)
Normal	63.0 ± 2.2
Control	116.4 ± 2.9 ⁺
FU	105.5 ± 3.9
BB	88.1 ± 2.0 ^{**}
FB	103.7 ± 3.4 [*]

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p < 0.01$).

* : Statistically significant compared with control group(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

2. 혈청 중 ALT 에 미치는 영향

혈청 중 ALT(alanine aminotransferase; GPT)에 미치는 영향을 실험한 결과, galactosamine을 투여한 대조군의 혈청 중 ALT는 83.5±3.0 units/mL 로 정상군의 평균 42.3±4.3 units/mL 보다 현저하게 증가하였다($p < 0.01$). 웅담(FU) 투여군은 71.8±2.3 units/mL 로 대조군에 비하여 현저하게 저하되었으나($p < 0.01$) 정상군보다는 현저히 높았다. 우황(BB) 투여군은 60.5±3.1 units/mL 로 역시 대조군에 비하여 뚜렷하게 저하되었으며($p < 0.01$), 웅담투여군보다 낮은 수치를 보였다. 웅황탕(FB) 투여군은 78.6±2.5 units/mL 로 대조군에 비하여 다소 낮았으나 유의한 수준은 아니었다(Table II).

Table II. Effects of FU, BB and FB on Serum ALT in Galactosamine-intoxicated Rats

Contents	Serum ALT ^{a)} (units/mL)
Normal	42.3 ± 4.3
Control	83.5 ± 3.0 ⁺⁺
FU	71.8 ± 2.3 ^{**}
BB	60.5 ± 3.1 ^{**}
FB	78.6 ± 2.5

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p < 0.01$).

** : Statistically significant compared with control group($p < 0.05$).

3. 혈청 중 ALP 에 미치는 영향

혈청 중 ALP(alkaline phosphatase)에 미치는 실험한 결과, 대조군은 ALP는 68.3±4.6 units/mL 로 정상군의 평균 37.0±3.0 units/mL 보다 현저하게 증가하였다($p < 0.01$). 웅담(FU) 투여군의 ALP는 64.2±3.7 units/mL 로 유의한 차이를 보이지 않았으나, 우황(BB) 투여군은 55.6±3.4 units/mL 로 대조군에 비하여 유의성 있게 저하되었고($p < 0.05$), 웅황탕(FB) 투여군도 55.3±3.2 units/mL 로 대조군에 비하여 유의성 있게 저하되었다($p < 0.05$)(Table III).

Table III. Effects of FU, BB and FB on Serum ALP (alkaline phosphatase) in Galactosamine-intoxicated Rats

Contents	Serum ALP ^{a)} (units/mL)
Normal	37.0 ± 3.0
Control	68.3 ± 4.6 ⁺⁺
FU	64.2 ± 3.7
BB	55.6 ± 3.4 [*]
FB	55.3 ± 3.2 [*]

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p < 0.01$).

* : Statistically significant compared with control group($p < 0.05$).

4. 혈청 중 γ GT 에 미치는 영향

γ GT (gamma-glutamyltranspeptidase)에 미치는 영향을 실험한 결과, 대조군의 혈청 중 γ GT는 89.6±4.2 units/mL 로 정상군의 평균 42.3±4.2 units/mL 보다 현저하게 증가하였다($p<0.01$). 웅담(FU) 투여군은 72.6±5.0 units/mL 로 대조군에 비하여 유의하게 저하되었으나($p<0.05$) 정상군보다는 상당히 높았다. 우황(BB) 투여군의 γ GT는 72.4±4.7 units/mL 로 역시 대조군에 비하여 유의하게 저하되었으며($p<0.05$), 옹황탕(FB) 투여군 역시 70.4±5.4 units/mL 로 유의성 있게 저하되었다($p<0.05$). 즉, 웅담, 우황 및 옹황탕 투여군 모두 대조군에 비하여 γ GT가 유의하게 저하되었으며, 그 저하정도는 옹황탕 투여군이 보다 현저하였다(Table IV).

Table IV. Effects of FU, BB and FB on Serum γ GT (gamma-glutamyltranspeptidase) in Galactosamine-intoxicated Rats.

Samples	Contents	Serum γ GT ^{a)} (units/mL)
Normal		42.3 ± 4.7
Control		89.6 ± 4.2**
FU		72.6 ± 5.0*
BB		72.4 ± 4.7*
FB		70.4 ± 5.4*

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p<0.01$).

* : Statistically significant compared with control group($p<0.05$).

5. 肝 지질과산화에 미치는 영향

肝 과산화지질(lipid peroxides)에 미치는 영향을

실험한 결과, 대조군의 肝 과산화지질은 2.60±0.08 nM/mg protein 으로, 정상군의 평균 1.02±0.00 nM/mg protein 보다 현저하게 증가하였다($p<0.01$). 웅담(FU) 투여군의 과산화지질은 2.26±0.09 nM/mg protein 으로 대조군에 비하여 유의하게 저하되었으며($p<0.05$), 우황(BB) 투여군도 2.15±0.08 nM/mg protein 으로 현저하게 저하되었고($p<0.01$), 옹황탕(FB) 투여군도 2.24±0.07 nM/mg protein 으로 역시 현저하게($p<0.01$) 낮았다(Table V).

Table V. Effects of FU, BB and FB on Serum Lipid Peroxides in the Liver of Galactosamine-intoxicated Rats

Samples	Contents	Serum Lipid Peroxides ^{a)} (nM/mg protein)
Normal		1.02 ± 0.00
Control		2.60 ± 0.08**
FU		2.26 ± 0.09*
BB		2.15 ± 0.08**
FB		2.24 ± 0.07**

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p<0.01$).

* : Statistically significant compared with control group (* $p<0.05$, ** $p<0.01$).

6. 肝 미토콘드리아의 지질과산화에 미치는 영향

肝 미토콘드리아의 지질과산화에 미치는 영향을 실험한 결과, 대조군의 미토콘드리아의 과산화지질은 2.11 ± 0.07 nM/mg protein 으로 정상군의 평균 0.94 ± 0.04 nM/mg protein 보다 2 배 이상으로 현저하게 증가하였다($p<0.01$). 웅담(FU) 투여군의 과산화지질은 1.71 ± 0.06 nM/mg protein 으로 대조

군에 비하여 현저하게 저하되었으나($p < 0.01$), 우황(BB) 투여군은 1.93 ± 0.06 nM/mg protein 으로 대조군에 비하여 다소 저하되었으나 유의성은 없었다. 옹황탕(FB) 투여군은 1.80 ± 0.05 nM/mg protein 으로 대조군에 비하여 현저하게 낮았다($p < 0.01$)(Table VI).

Table VI. Effects of FU, BB and FB on Mitochondrial Lipid Peroxides in the Liver of Galactosamine-intoxicated Rats

Samples	Contents	Mitochondrial Lipid Peroxides ^{a)} (nM/mg protein)
Normal		0.94 ± 0.04
Control		2.11 ± 0.07**
FU		1.71 ± 0.06**
BB		1.93 ± 0.06
FB		1.80 ± 0.05**

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p < 0.01$).

** : Statistically significant compared with control group($p < 0.01$).

7. 혈청 중 glutathione(GSH) 함량에 미치는 영향

간의 GSH에 미치는 영향을 실험한 결과, 대조군의 혈청 중 GSH는 18.10 ± 1.00 nM/mg protein 으로 정상군의 평균 27.06 ± 1.00 nM/mg protein 보다 유의하게 감소하였다($p < 0.05$). 옹담(FU) 투여군과 옹황탕(FB) 투여군은 각각 19.05 ± 0.86 nM/mg protein, 20.76 ± 0.94 nM/mg protein으로 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었으며, 우황(BB) 투여군은 21.90 ± 0.92 nM/mg protein 으로 대조군에 비하여 유의하게 증가되었다($p < 0.05$)(Table VII).

Table VII. Effects of FU, BB and FB on Reduced Glutathione in the Liver of Galactosamine intoxicated Rats

Samples	Contents	Glutathione ^{a)} (nM/mg protein)
Normal		27.06 ± 1.00
Control		18.10 ± 1.00**
FU		19.05 ± 0.86
BB		21.90 ± 0.92*
FB		20.76 ± 0.94

a): Values are mean ± S.E. of 6 animals in each group.

Normal : Administrated with saline.

Control : Galactosamine-intoxicated control.

FU: Administrated with Fel Ursi (100mg/kg, *p.o.*)

BB: Administrated with Bezoar Bovis (100mg/kg, *p.o.*)

FB: Administrated with FU(50mg/kg, *p.o.*) and BB(50mg/kg, *p.o.*)

++: Statistically significant compared with normal group($p < 0.01$).

* : Statistically significant compared with control group($p < 0.05$).

考 察

熊黃湯은 熊膽과 牛黃의 2種으로 구성된 藥對로, 한방 임상에서 亞急性 重症 간염 치료에 응용되고 있다.¹⁾ 熊膽과 牛黃 각 2g으로 구성되어 있으며, 茵陳과 梔子 등 清熱藥을 隨症 加減하여 사용할 수 있다.¹⁾

熊膽은 《藥性論》²²⁾에 “主小兒五疳, 殺蟲, 治惡瘡”이라고 처음 수재되었으며, 《新修本草》²³⁾에 “熊膽, 味苦寒 無毒. 療時氣熱盛變爲黃疸, 暑月久痢, 疳蠱心痛, 住忤”라고 기술되었고, 《食療本草》²⁴⁾에 “寒, … 小兒驚癇. 十月勿食, 傷神.”이라고 하였으며, 李時珍²⁵⁾은 “退熱清心, 平肝明目, 去翳, 殺蛔蠅蟲”이라고 하였다. 熊膽은 苦寒한 性味로 肝, 膽, 心, 胃 經에 들어가 清熱解毒, 平肝明目, 殺蟲止血의 효능이 있어 濕熱黃疸, 暑濕瀉痢, 目赤翳障, 喉痺, 鼻蝕, 疔瘡, 痔漏, 疳疾과 각종 出血의 치료에 사용된다.⁵⁾ 熊膽은 매우 강한 鎮痙작용을 갖고 있으며, 鎮痙작용은 주로 tauro-ursodesoxy cholic acid의 작용으로 알려져 있다.²⁶⁾

牛黃은 《神農本草經》²⁷⁾에 “牛黃, 味苦平. 主驚癇, 寒熱, 熱盛狂症, 除邪逐鬼.”라고 처음 기재되었으며, 《名醫別錄》²⁸⁾에 “有小毒. 主治小兒百病, 諸癇, 熱口不開, 大人狂癲. 又墮胎, 久服輕身, 增年, 令人不忘.”이라고 하여 효능이 확대되었으며, 李時珍²⁵⁾은 “痘瘡紫色, 發狂譫語者可用.”이라고 하였다. 牛黃은 味苦甘, 性涼하여 心, 肝經에 들어가 清心涼肝, 豁痰開竅, 清熱解毒의 효능이 있어 熱病으로 인한 神昏, 中風竅閉, 驚癇抽瀉, 小兒急驚, 咽喉腫爛, 口舌生瘡과 癰疽腫毒 등을 치료하는데 사용되고 있다.⁵⁾

熊黃湯은 苦寒한 性味로 肝, 膽, 心, 胃 經에 들어가 清熱解毒, 平肝明目하는 熊膽과 味苦甘, 性涼하여 心, 肝經에 들어가 清心涼肝, 豁痰開竅, 清熱解毒하는 牛黃의 藥對로 구성된 처방이다. 藥對는 對藥, 對子, 兄弟藥, 姊妹藥이라고도 한다. 藥對는 보통 두가지 약물이 한쌍을 이루지만, 때로는 세가지 이상의 약물로 구성되어 임상에서 자주 쓰이는 고정된 配伍형식이며, 약물 配伍에서 가장 작은 單位로 비록 그 조성은 간단하나 약물 配伍의 기본적인 특징을 갖추고 있다. 藥對의 효능은 구성하고 있는 單味藥의 효능과 밀접한 관계를 가지고 있으나, 대체로 單味藥의 효능을 합친 것보다 더 강하고 그 작용이 더 전면적이며 또 독성이나 부작용이 감소되거나 제거된다.²⁾

본 연구에서는 熊膽과 牛黃, 그리고 熊膽과 牛黃의 藥對로 구성된 熊黃湯이 肝臟에 미치는 효능을 구명하고자 galactosamine으로 급성간염을 유발한 흰쥐에 熊膽과 牛黃, 그리고 熊黃湯을 투여하여 간기능의 지표가 되는 혈청 중 AST, ALT, ALP, γ GT 및 간조직의 지질과산화 등에 대한 영향을 측정하였다.

Galactosamine 은 간 조직의 괴사를 일으키고 혈청 중의 AST, ALT 및 bilirubin을 급상승 시킨다.^{16,29-31)} 본 연구에서도 galactosamine 투여로 대조군의 AST, ALT, ALP 등이 정상군에 비하여 현저히 증가하여 肝 조직이 심하게 손상되었음이 확인되었고, 腎臟기능의 주요지표 중 하나인 γ GT까지 현저히 증가하여 그 여파가 腎臟까지 손상시켰음을 알 수 있었다. 한편, 肝조직 및 미토콘드리아의 과산화지질 역시 galactosamine 투여로 현저히 증가하였고, 이로 인하여 GSH의 함량은 유의성 있게 저하되었다.

웅담(FU)투여군은 대조군에 비하여 ALT는 현저하게 감소되었으나, AST 및 ALP는 유의성 있는 차이를 보이지 않아, galactosamine 투여로 인한 간

조직 손상에 다소 효과는 있으나 그 효능이 탁월하지 않음을 암시하였다. 그러나, 웅담(FU)투여로 γ GT가 유의하게 저하되어 신장기능이 다소 회복되었음을 보였고, 또한 肝조직 및 미토콘드리아의 과산화지질이 유의하게 감소한 것으로 미루어 보아 웅담이 간기능 회복에 유효하며 이 과정에서 웅담의 항산화작용이 간기능회복에 크게 기여함을 시사하였다.

우황(BB)투여군은 AST, ALT, ALP 등 간기능지표 및 신장기능지표인 γ GT를 유의하게 저하시켰으며, 이와 함께 간의 과산화지질량은 현저히 감소되었으나, 미토콘드리아의 과산화지질량에는 유의성이 없었고, 환원 GSH 량은 상승하는 효과를 보였다. 이처럼 우황이 AST, ALT, ALP 및 γ GT 등을 저하시킨 것을 미루어 보아, 우황은 손상된 간조직의 개선에 효능이 있다고 사료되었다.

한편, 熊膽과 牛黃의 藥對인 熊黃湯 투여군의 경우에는 GSH 함량에는 유의성이 없었으나 이밖에 AST, ALP, γ GT, 과산화지질함량 등에서는 모두 유의성이 인정되었다. 이와같은 결과로 미루어 보아, 熊黃湯은 웅담이나 우황을 개별적으로 투여할 때보다 간기능개선 및 과산화지질 함량 개선에 보다 효율적이라고 판단되었다.

이상의 실험결과로 보아, 熊膽 및 牛黃은 galactosamine 으로 유도된 급성 간염 질환에 효과적으로 작용할 것으로 판단되었으며, 특히 熊膽과 牛黃의 藥對로 구성된 熊黃湯은 웅담이나 우황을 개별적으로 투여할 때보다 간기능개선 및 과산화지질 함량 개선에 보다 효율적이라고 판단되었다.

結 論

熊膽과 牛黃, 그리고 熊膽과 牛黃의 藥對로 구성된 熊黃湯이 肝臟에 미치는 효능을 구명하기 위하여, galactosamine으로 급성간염을 유발한 흰쥐에 熊膽과 牛黃, 그리고 熊黃湯을 투여하여 간기능의 지표가 되는 혈청 중 AST, ALT, ALP, γ GT 및 간조직의 지질과산화 등에 대한 영향을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 熊膽은 galactosamine에 의한 급성간염 흰쥐의 혈청 중 ALT, γ GT, 肝조직 과산화지질 및 간조직 미토콘드리아의 과산화지질을 저하시켰으나, AST 및 ALP 등에는 유의성이 없었다.

2. 牛黃은 galactosamine에 의한 급성간염 흰쥐의 혈청 중 AST, ALT, ALP, γ GT 및 肝조직의 과산화지질을 저하시켰으나, 간조직 미토콘드리아의 과산화지질에는 유의성이 없었다.
3. 熊黃湯은 galactosamine에 의한 급성간염 흰쥐의 혈청 중 AST, ALP, γ GT, 肝조직 및 간조직 미토콘드리아의 과산화지질함량 저하 등에 유의한 효과를 보였다.

이상의 결과에서, 熊膽 및 牛黃은 galactosamine에 의한 급성 간염 질환에 효과가 있다고 판단되며, 특히 熊膽과 牛黃의 藥對로 구성된 熊黃湯은 熊膽이나 牛黃을 개별적으로 투여할 때보다 간기능 개선 및 과산화지질 함량 개선에 보다 효율적이라고 사료된다.

參攷文獻

1. 雷載權. 中華臨床中藥學. 北京:人民衛生出版社. 1998:上:397-9, 下:1452-9.
2. 高曉山 主編. 中藥藥性論. 北京:人民衛生出版社. 1992:261-4.
3. 陳維華 著, 盧映濤 譯. 藥對論. 서울: 一中社. 1998:5.
4. 식품의약품안전청. 대한약전 및 대한약전의 한약(생약)규격집. 서울. 2002:195,197,288.
5. 國家中醫藥管理局 中華本草 編纂委. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999:9:574-6.
6. 江蘇新醫學院編. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1977:2584-5.
7. Hagey LR, Crombie DL, Espinosa E, Carey MC, Igimi H, Hofman AF. Ursodeoxycholic acid in the Ursidae-biliary bile acids of bears, pandas, and related carnivore. J Lipid Res. 1993;34:1911-7.
8. Olsson R. Ursodeoxycholic acid in the treatment of chronic cholestatic liver disease. Documented delay in disease progress inspires hope. Lakartidningen. 2002;99(12):1325-30.
9. Angulo P. Use of ursodeoxycholic acid in patients with liver disease. Curr. Gastroenterol Rep. 2002;4(1):37-44.
10. 國家藥典委員會編. 中華人民共和國藥典(2000年版一部). 北京:化學工業出版社. 2000:52-3.
11. 황우준. 사향 우황 응담 약침이 부자로 유발된 간손상의 회복에 미치는 효과에 관한 관찰. 대한한의학회 약침학회지. 1997;1(1):1-21.
12. 황우준. 牛黃·熊膽 藥針이 adjuvant 관절염에 미치는 영향. 서울. 약침학회지. 1997;1(1):35-52.
13. 황우준. 흰쥐의 관절염에 미치는 응담우황약침과 저담우황 약침의 효능 비교. 대한침구학회지. 1999;16(1):533-47.
14. 도원석, 김경호, 김갑성. 榆白皮, 桂枝, 牛膝, 蜂毒 및 牛黃·熊膽·麝香 복합계제 藥針이 mouse의 LPS유발 關節炎의 혈액학적 변화에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001;18(1):157-69.
15. 차용석. 熊膽·牛黃 및 向日葵油 藥針刺戟이 생쥐 皮膚癌의 免疫기능에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위 논문. 1993.
16. Murthy MSR, Srinivasan M. Hepatoprotective effect of Tephrosia purpurea in Experimental animals. Indian J Pharmacol, 1993;25:34-6.
17. Engstrom L. Studies on bovine-liver alkaline phosphatase, purification, phosphate incorporation. Biochim Biophys Acta. 1964;92:71-8.
18. Szasz G, Cooper GR. Selected methods of clinical chemistry. Washinton:American Association for Clinical Chemistry. 1977:8.
19. Wong SH, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach CN, Sundermann FW Jr. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid chromatographic separation of malondialdehyde thiobarbituric acid adduct. Clin. Chem. 1987;33:214-20.
20. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72:248-54.
21. Baker MA, Cerniglia GJ, Zaman A. Microtiter plate assay for the measurement of glutathione and glutathione disulfide in large numbers of biological samples. Anal. Biochem. 1990;190:60-5.
22. 唐愼微 著, 艾晟 刊訂. 大觀本草. 合肥:安徽科學技術出版社. 2003:549-51.
23. 蘇敬 等撰, 常志均 輯校. 輯復本草 唐·新修本草. 合肥:安徽科學技術出版社. 1981:362-3,369-70.
24. 孟詵, 張鼎 撰. 謝海洲 輯. 食療本草. 北京:人民衛生出版社. 1984:56-7.

25. 李時珍. 本草綱目. 서울:醫聖堂 영인본. 1993: 2799-802, 2837-40.
26. 오창영 譯. 약용동물학. 서울:의성당. 2002:606-9.
27. 顧觀光 輯, 楊鵬學 校注. 神農本草經校注. 北京: 學苑出版社. 1998:186-7.
28. 陶弘景 集, 常志均 輯校. 名醫別錄 輯校本. 北京: 人民衛生出版社. 1986:71.
29. Slater TF, ed. Biochemical mechanisms of liver injury. New York:Academic Press, 1978: 1-44.
30. James GWL, Pickering RW. The protective effect of a novel compound RU-18492 on galactosamine induced hepatotoxicity in rat. *Arzneimittel Forschung (Drug Research)*. 1976;26:2197-9.
31. Mehendale HM, Hepatic toxicity, *Modern Toxicology*. Delhi:Metropolitan Book Co. 1985:1:225-76.