

清肝散이 急性 Ethanol 中毒에 의한 肝損傷에 미치는 影響

곽 익훈* · 김 종대* · 정 지천* · 신 억섭**

Effects of Chunggansan on Acute Damages of Liver Induced by Ethanol in Rats

Kwak Ik-Hoon, Kim Jong-Dae, Jeong Ji-Cheon

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dong Guk University

Shin Uk-Seub

Dept. of Pharmacy, Dongguk medical center

Chunggansan(清肝散) was tested for the effects on detoxication mechanism of alcohol. Chunggansan was treated firstly into samples, and then ethanol intoxicated animal models were set with them. *In vitro*, the level of lipid peroxide in tissue of liver proportionally decreased with the level of concentration of extract prepared from Chunggansan. *In vivo*, after the extract was administered to the animal model for several days, the level of lipid peroxide in liver dependently decreased in proportion of concentration. The glutathione percentage purposely induced acute ethanol intoxicated samples, followed by Chunggansan pre-medicating administration, increased in compare with the group treated with only ethanol. Also, the enzyme activities of ALT, AST, and γ -GTP in liver decreased.

【Key words】 Chunggansan, Alcohol, Lipid peroxide, Glutathione, ALT, AST, γ -GTP

I. 緒 論

술은 適當히 마시면 血液循環을 促進시키고 新進代謝를 活潑히 하지만¹⁾, 스트레스 解消의 次元을 넘어 過度하고 持續적인 飲酒는 脂肪肝, alcohol性 肝炎, 肝硬變症 等の alcohol性 肝疾患을 誘發하며 경우에 따라서는 致命傷을 일으켜 經濟的, 社會的 問題를 招來하기도 한다.²⁾

『內經』에서는 氣가 慄悍하므로 胃腸에 들어가면 胃脹하고 氣上逆하여 胸中에 充滿되어 肝浮膽橫한다³⁾ 하였고, 絡脈滿하고 經脈虛하여⁴⁾ 胃不和한다⁴⁾고 하여 肝과 胃와의 相關性을 나타내었다. 以後 巢⁵⁾ 등이 脾·胃⁶⁻¹²⁾ 및 肝·膽^{5,12)}의 損傷과 密接한 關聯이

* 東國大學校 韓醫科大學 內科學教室

** 東國醫療院 藥劑科

있다고 하였다.

酒傷으로 인한 病名은 『內經』以來로 酒疸 酒癖 酒積 酒厥 酒瘕 酒痰 酒嗽 酒泄 酒癥 等多樣하게 言及되어 왔으며²⁾, 病理는 술의 性이 大熱 有毒하고 氣熱 質濕하므로^{4,5,11,13,14)}, 大部分 濕熱 停留로 인한 內傷^{2,15-18)}으로 說明되고 있다.

治療에 대하여 李¹⁹⁾가 提내는 것이 가장 效果의이고 그 다음이 利小便이라고 하여 上下分消其濕法을 創案하였으며, 많은 歷代醫家들^{7-12,14,20-25)}이 이 說을 引用하였다.

이와 관련된 實驗的 研究로서 葛花解酲湯¹⁵⁾, 加減葛花解酲湯²⁵⁾, 加味對金飲子²⁶⁾, 清肝健脾湯²⁷⁾, 小調中湯²⁸⁾ 등이 各各 白鼠의 alcohol性 肝損傷에 對하여 肝機能 改善에 效果가 있다고 報告되었다.

清肝散은 酒傷으로 인한 肝 및 脾胃의 機能을 恢復시키기 爲하여 茵陳과 葛根을 君藥으로 酒傷에 多用되는 藥物들로 構成된 處方인데, 臨床에서 많이 활용하고 있으며, 하 등²⁹⁾은 alcohol性 肝障礙 患者에 常用하여 優秀한 治療效果를 얻었다고 報告하였다.

이에 著者는 清肝散의 alcohol 解毒能과 alcohol性 肝疾患에 대한 豫防效果를 檢討하기 위하여 白鼠에 清肝散을 前處置한 後 ethanol 毒性을 誘發하여 肝에서 過酸化脂質, Glutathione, 그리고 血清 ALT 와 AST, γ -GTP를 測定하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1-1. 藥材

本 實驗에 使用한 藥材는 東國大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였으며, 清肝散의 1 貼 分量은 다음과 같다.

清肝散		
茵陳	Artemisiae Capillaris Herba	4 g
葛根	Puerariae Radix	4 g
澤瀉	Alismatis Rhizoma	2 g
白朮	Atractylis Rhizoma	2 g
乾薑	Zingiberis Rhizoma	1 g
總量		13 g

1-2. 動物

實驗에 使用한 動物은 東國大學校 韓醫科大學 動物飼에서 一定한 溫度와 濕度가 維持되는 條件으로 飼育한 體重 $250 \pm 20g$, 生後 10 ± 2 週齡의 雄性 Sprague-Dawley系 흰쥐를 使用하였다.

1-3. 試藥 및 機器

Bovine serum albumin(BSA), Glutathione reduced, nicotineamide adenine dinucleotide(NAD), sodium chloride, sodium hydroxide, thiobarbituric acid sodium salt, tris base는 Sigma社로부터, nicotineamide adenine dinucleotide phosphate reduced form(NADPH)은 Kohjin社, 5, 5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid), trichloroacetic acid는 Nakarai社로부터, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako pure Chemical는 Fluka社로부터, malondialdehyde(MDA)는 Aldrich社로부터 購入한 製品을 使用하였고, alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST) 및 γ -glutamyl transpeptidase(GTP) 測定用 kit는 Eiken社의 것을 購入하였으며 그외 本實驗에 使用한 기타 모든 試藥은 特級品을 使用하였다.

2. 方法

2-1. 抽出物の 調製

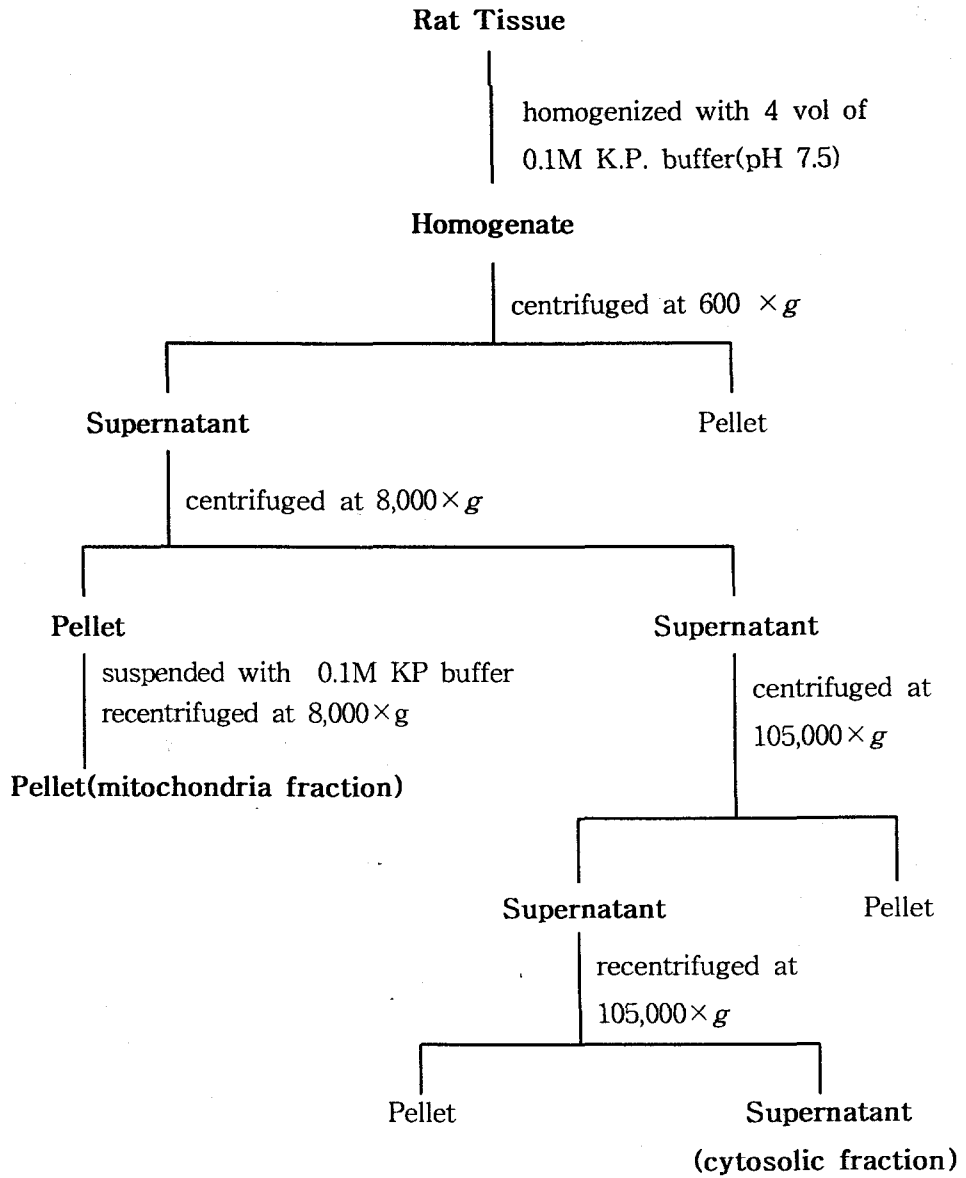
淸肝散 10貼 分量인 $130g$ 을 round bottom flask에 蒸溜水 $1000ml$ 와 함께 넣은 다음 冷却器를 附着하여 120分間 加熱하여 얻은 $500ml$ 程度의 煎湯液을 $4^{\circ}C$ $5,000r.p.m.$ 으로 20分間 遠心分離하여 粒子를 除去한 後 rotary vaccum evaporator를 使用하여 減壓 濃縮시켜 액기스 粉末 $19.2g$ 을 얻은 後 本實驗에 必要한 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

2-2. 急性 Ethanol 毒性 誘發 및 試料 投與

一般的으로 일어날 수 있는 生體 內的인 藥物의 代謝 過程 等 間接的인 影響을 줄 수 있는 因子들의 作用을 最大한 排除하기 위하여 16時間 以上 絶食시킨 同一한 條件의 實驗動物에 Petterson 等³⁰⁾의 方法을 若干 變更하여 急性 毒性 모델을 만들었다. 急性 Ethanol 毒性 誘發은 Absolute ethanol을 體重 $4g/kg$ 을 屠殺 6時間 前에 經口 投與하였다. 實驗動物은 正常群, Ethanol 投與 毒性 誘發群 및 淸肝散 前處置後 ethanol 投與 毒性 誘發群 等의 세 그룹으로 分類하였으며, 한 그룹당 個體數를 5마리 以上으로 하였다. 淸肝散 抽出物의 投與는 體重 $200mg/kg$ 을 7일간 腹腔注射하였으며 對照群은 동량의 生理食鹽水를 投與하였다.

2-3. 酵素源의 調製

動物을 ether로 麻醉시킨 다음 腹部 正中線을 따라 開腹한 後 腹部大動脈으로 부터 血液을 採取하고 0.9% 生理食鹽水를 貫流시킨 肝臟을 摘出하였다. 肝組織은 生理食鹽水에 깨끗이 씻은 다음 濾紙로 가볍게 壓迫하여 異物質 또는 生理食鹽水를 除去하였다.



Scheme 1. Preparation of enzyme source

肝組織 1g當 4倍量의 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 以下 K.P. buffer로 略稱)를 加하여 氷冷下에서 glass teflon homogenizer로 磨碎하였다. 이 磨碎 均質液을 $600 \times g$ 에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎部分을 除去한 上澄液을 얻고 이것을 다시 $10,000 \times g$ 에서 20分間 遠心分離하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 한편 mitochondrial fraction을 除去한 上澄液을 $105,000 \times g$ 에서 1時間 동안 超遠心分離하여 cytosolic fraction을 分離하였다. Cytosolic fraction은 alcohol dehydrogenase 活性 測定の 酵素源으로 使用하였으며 mitochondrial fraction은 0.1M K.P. buffer에 懸濁시킨 다음 再遠心分離하였다. 이때 얻은 mitochondria 分割을 aldehyde dehydrogenase 活性 測定の 酵素源으로 使用하였다. 實驗動物로부터 採取한 血液은 血中 ethanol含量 測定에 일부 利用하였으며 나머지 血液은 室溫에서 30分정도 放置하여 충분히 凝固시킨 다음, 血清을 分離하여 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST) 및 γ -glutamyl transpeptidase(γ -GTP) 活性測定源으로 使用하였다. 以上の 모든 操作은 $0-4^{\circ}\text{C}$ 에서 하였다(Scheme I).

2-4. 酵素 活性의 測定

2-4-1. ALT 및 AST 活性 測定

血清中 ALT 및 AST의 活性 測定은 Reitman과 Frankel의 方法³¹⁾에 準하여 調製된 kit試藥을 利用하여 實施하였다. ALT 및 AST 基質液 一定量을 試驗管內에 넣고 37°C 에서 5분간 放置한 다음 血清을 넣어 37°C 에서 ALT는 30분, AST는 60분간 反應시킨 뒤 정색 시약을 添加하여 反應을 終了시키고 0.4N-NaOH 溶液을 加하여 잘 混合한 다음 10분간 放置하고 波長 505nm에서 吸光度의 變化를 測定하였다. 血清中の 酵素 活性度는 血清 1ml當 Karmen unit⁴²⁾로 나타내었다.

2-4-2. γ -GTP 活性 測定

血清中 γ -GTP의 活性測定은 Divon의 方法³²⁾을 若干 修整하여 實施하였다. 基質液 1.0ml를 試驗管에 加하여 37°C 에서 5分間 加溫한 다음 血清 一定量을 加하여 잘 混合한 後 37°C 에서 30分間 反應시켰다. 이 反應液에 정색시약 3.0ml를 가하여 10분간 室溫에서 放置시킨 다음 60分 以內에 멩검을 對照로하여 波長 565nm에서 生成된 p-nitroaniline의 量을 nmole로 나타내었다.

2-5. 過酸化脂質 含量 測定

過酸化脂質 含量 測定은 Ohkawa 등의 方法³³⁾에 準하여 肝組織 磨碎均質液 一定量에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 溶液을 가해 95°C 에서 1時間 동안 反應시키고 室溫으로 冷却한 다음 生成된 紅色의 TBA reactive substance를 n-Butanol: Pyridine (15:1) 混液으로 移行시켜 波長 532nm에서 吸光度의 變化를 測定하여 定量하였다. 過酸化脂質의 含量은 蛋白 1mg當 malondialdehyde(MDA)의 量을 nmole로 나타내었다.

2-6. Glutathione 含量 測定

組織中 Glutathione 含量 測定은 Ellman의 方法³⁴⁾에 準하여 組織 磨碎液 一定量에 4% sulfosalicylic acid를 加해 除蛋白시켜 얻은 上澄液 一定量에 0.1mM 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)를 含有한 0.1M sodium phosphate buffer (pH 8) 一定量을 넣고 反應시켜 生成된 p-nitrothiophenol의 吸光度를 波長 412nm에서 測定하여 濃度を 算定하였다. GSH 含量은 組織 1g當 含有되어 있는 GSH의 量을 μmole 로 나타내었다.

2-7. 蛋白質의 定量 및 統計處理

蛋白質의 定量은 Lowry 等³⁵⁾의 方法에 準해 bovine serum albumin을 標準品으로 하여 定量하였다.

實驗 結果의 有意性 檢證은 Student's *t*-test를 利用하여 相互 比較하였고, P값이 0.05未滿일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 實驗成績

1. 試驗管内 肝組織의 過酸化脂質 含量 變化

脂質 過酸化 反應을 測定하는 反應液中에 淸肝散 抽出物의 濃度を 달리 하면서 試驗管内에 添加시키고 生體條件과 同一하게 反應을 進行시키기 위하여 37°C에서 一定時間 加溫한 後 肝組織中の 過酸化脂質의 含量을 觀察하여 나타내었다.(그림 1.)

淸肝散 抽出物을 添加시키지 않은 正常狀態의 反應條件에서는 過酸化脂質 含量이 13.48 nmoles/g of tissue이었다. 그러나 反應液中에 淸肝散 抽出物을 添加하였을 때, 過酸化脂質의 含量은 淸肝散 抽出物 添加 濃度 依存的으로 減少를 나타내어, 添加量이 1mg/ml 되게 하였을 때는 過酸化脂質의 含量이 10.45 nmoles/g of tissue, 2mg/ml인 境遇는 9.01 nmoles/g of tissue, 5mg/ml인 境遇는 5.51 nmoles/g of tissue로 對照置에 비해 有意性 있는 抑制現狀을 觀察할 수 있었다.

2. 肝組織內 過酸化脂質 含量 變化

實驗動物에 淸肝散 抽出物을 用量을 달리하면서 일주일 동안 腹腔 注射한 後 屠殺하여 肝臟을 摘出した 다음 磨碎하여 過酸化脂質의 含量을 測定하였다.(그림 2.)

淸肝散을 投與하지 않은 正常群의 過酸化脂質 含量이 13.48 nmoles/g of tissue 였으나 淸肝散의 投與濃度を 增加시킬수록 生體內에서 過酸化脂質의 含量이 減少되었으며 특히 200mg/kg을 投與한 實驗群의 境遇는 過酸化脂質의 含量이 9.66 nmoles/g of tissue로 對照群에 비해서 顯著한 含量減少 現狀을 觀察할 수 있었다.

3. 肝組織內 Glutathione 含量 變化

急性으로 ethanol 毒性을 誘發시킨 모델動物에서 淸肝散 抽出物이 肝組織中の Glutathione 含量에 미치는 影響을 觀察하였다.(그림 3.)

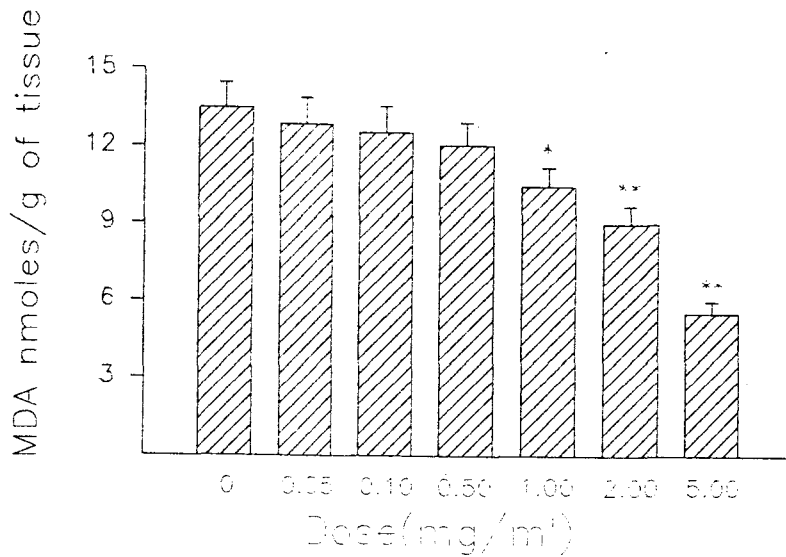


Fig. 1. Effect of the extract of Chunggansan on the hepatic lipid peroxidation *in vitro*. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 4 separate experiments. Significantly different from control (*:P<0.05, **:P<0.01).

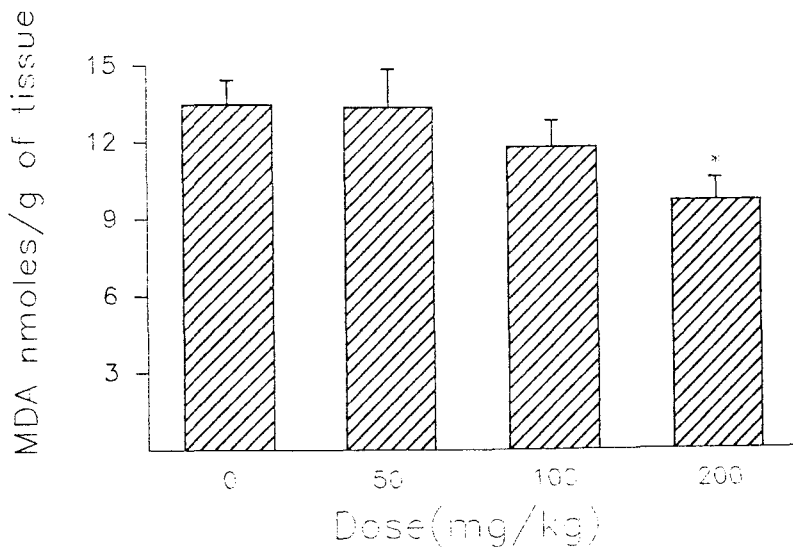


Fig. 2. Effect of the extract of Chunggansan on the hepatic content of lipid peroxide in rats. Rats were received the extract of Chunggansan for 7days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean \pm S.E. for 5 animals. Significantly different from control group (*:P<0.05).

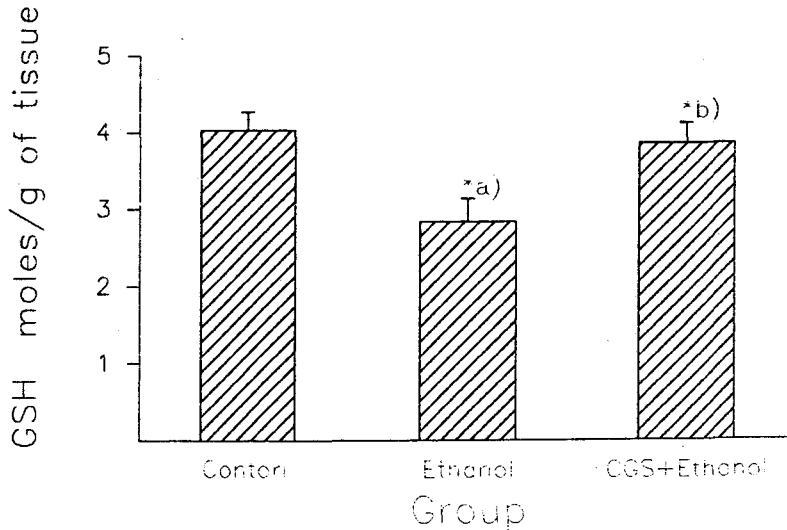


Fig. 3. Effect of the extract of Chunggansan on the hepatic Glutathione level in the acute ethanol-treated rats. Rats were received intraperitoneally with 4g/kg of ethanol for acute alcohol intoxication and were decapitated after 6hr the administration. The extract of Chunggansan was injected by i.p. for 7days. 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 ethanol-treated group (*:P<0.05). CGS : the extract of Chunggansan.

正常狀態의 正常群은 肝組織中の Glutathione 含量이 4.04 μ moles/g of tissue이었으나 急性 ethanol 毒性 誘發群의 境遇는 2.84 μ moles/g of tissue로 對照群에 比해서 若 30% 以上 顯著한 含量減少 現狀을 觀察할 수 있었다. 그러나 일주일 동안 淸肝散 抽出物을 前處置한 後 急性 ethanol 毒性을 誘發시킨 境遇는 Glutathione 含量이 3.86 μ moles/g of tissue로 거의 正常水準으로 恢復되어짐을 알 수 있었다.

4. 血清中 ALT 및 AST 活性 變化

實驗動物에 淸肝散 抽出物을 일주일간 前處置한 後 血清中の ALT 및 AST 活性變化를 觀察하였다.

正常群의 ALT 活性은 20.40 units이었으나 ethanol 急性 毒性 誘發群은 ALT 酵素 活性이 44.66 units로 對照群에 비해 약 2배 정도 顯著한 活性增加 現狀을 觀察할 수 있었다. 그러나 淸肝散 抽出物을 7日間 前處置한 後 ethanol을 投與한 實驗群은 ALT 酵素 活性이 33.02 units로 正常水準으로 調節되어지고 있음을 確認할 수 있었다.

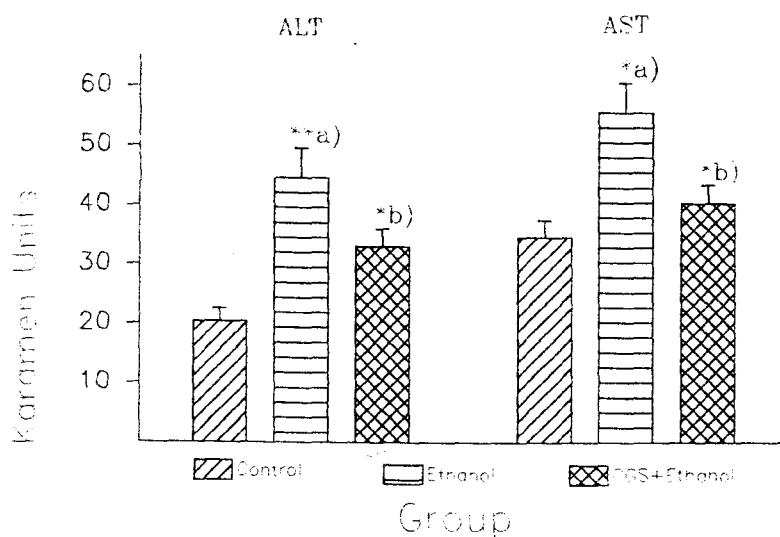


Fig. 4. Effect of the extract of Chunggansan on the serum ALT and AST activities in the acute ethanol-treated rat. Rats were received intraperitoneally with 4g/kg of ethanol for acute alcohol intoxication and were decapitated after 6hr the administration. The extract of Chunggansan was injected by i.p. for 7days. 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 ethanol-treated group (*:P<0.05, **:P<0.01).

한편 또다른 酵素인 AST의 活性을 測定한 境遇 正常群의 活性이 34.58 units 인데 比하여 急性 ethanol 投與 實驗群은 酵素 活性이 55.68 units로 對照群에 比해 60% 以上 活性 增加가 觀察되었으나 이러한 現狀은 일주일 동안 清肝散 抽出物의 前處置에 의해서 增加되던 酵素 活性이 正常群 水準으로 恢復되는 傾向을 觀察할 수 있었다.(그림 4.)

5. 血清中 γ -GTP 活性 變化

實驗動物에 清肝散 抽出物을 7일 동안 腹腔注射한 다음 急性 ethanol中毒 血液中 γ -GTP 活性을 測定한 결과 正常動物인 正常群의 酵素 活性은 32.63 nmoles이었으나 急性 ethanol投與 實驗群은 50.02 nmoles로 顯著한 增加를 나타내었다. 그러나 清肝散을 前處置한 實驗群은 35.66 nmoles로 거의 正常水準으로 恢復되는 傾向을 나타내었다.(그림 5.)

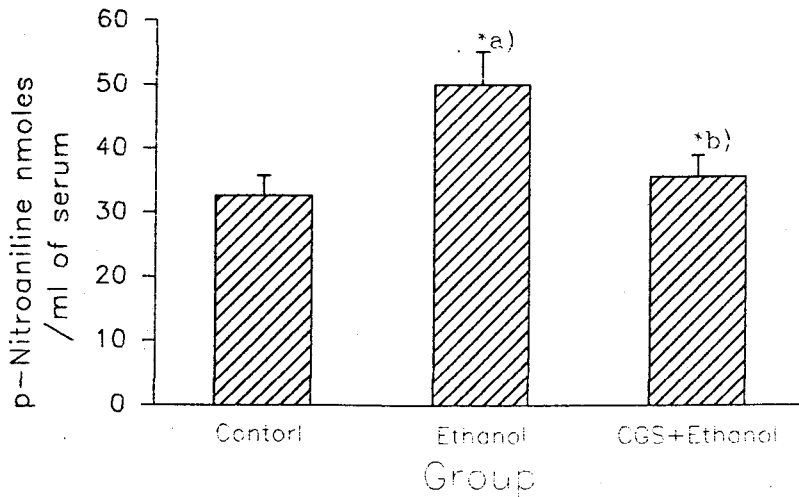


Fig. 5. Effect of the extract of Chunggansan on the serum γ -GTP activity in acute ethanol-treated rats. Rats were received intraperitoneally with 4g/kg. of ethanol for acute alcohol intoxication and were decapitated after 6hr the administration. The extract of Chunggansan was injected by i.p. for 7days. 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 ethanol-treated group (*:P<0.05).

IV. 考 察

술은 대부분의 의가들이 陽에 屬하고 그 氣는 熱하고 質은 濕하며, 性은 慳悍하고^{4,5,10,11,16,18,36,37)}, 大熱 有毒^{4,5,11,13,14)} 하다고 하였다.

술의 作用에 대해서는, 적당히 마시면 行氣和血, 通血脈, 善行藥勢, 厚腸胃, 潤皮膚하는 效力이 있으며, 過飲하면 기운과 몸을 傷하게 하고 性을 亂하게 하여 諸病을 生하게 한다고 하였고^{6,7)}, 生痰益火로 耗氣損精하여 濕熱諸病을 일으키거나 暴疾暴死에 이르게 한다고 하였다.^{10,14)}

靈樞 論勇篇³⁾에 酒는 水穀의 精이고 熟穀의 液으로서 기운이 慳悍하여 胃에 들어가면 胃가 脹하고 氣運이 위로 올라가서 가슴이 가득하고 肝은 浮하고 膽은 橫한다고 하였고, 巢⁵⁾는 胃에 들어가면 酒脹하고 氣逆하여 胸內에서 上逆하므로 薰於肝膽한 故로 肝浮膽橫하여 狂悖變怒 失於常性하게 된다고 하여 飲酒로 因하여 濕熱이 内生하면 中焦의 運化作用을 阻礙하여 昇降機能이 失調되어 痰火停積으로 上逆於胸內 薰於肝膽하므로 肝의 升發動搖作用을 지나치게 亢進시켜 肝浮膽橫한는 病變을 誘發하게 된다고 하였다^{15,28)}.

治療에 관하여 李¹⁹⁾는 술은 氣味가 모두 陽이고 無形之物이므로 이에 傷할 경우 發汗 散出하는 것이 最妙法이며, 그 다음이 利小便이라 하여 上下分消其濕法을 創案하였다. 그리고 술은 大熱하여 元氣를 傷하게 하므로 瀉法을 使用할 경우 腎水眞陰이 損傷을 입게 된다고 하여 禁하였다. 李³⁷⁾는 上汗하고 下滲하는 分消其濕과 補脾胃 清中氣 順氣 分導의 分消與調中法을 使用하였고, 李¹⁰⁾는 처음 술에 취해 정신이 없을 때는 發汗하고, 술이 깬 뒤 熱이 사라지고 濕이 남았으면 소변을 잘 나오게 하는 上下分消其濕 熱의 치료법보다 나은 것은 없다고 하였고, 만약 병이 內臟으로 전해 들어간 경우는 本病藥中에 去濕熱하는 藥을 兼하여 使用해야 한다고 하였다. 이외에 王²³⁾, 張¹¹⁾ 등도 除濕利水의 治法을 使用하였다.

ethanol로 誘發된 肝損傷에 對한 動物實驗을 알아 보면, 葛花解酲湯³⁸⁾은 ethanol 代謝에 參與하는 酵素인 alcohol dehydrogenase, aldehyde dehydrogenase의 活性과 관계 없이 有意性 있게 alcohol 代謝率을 增加시켰고, 加減葛花解酲湯²⁵⁾은 上升된 血清中の GOT, GPT, LDH, LAP, AIP 活性度를 有意性 있게 減少시켰다. 또한 清肝健脾湯²⁷⁾은 alcohol로 損傷된 白鼠의 肝細胞 및 胃細胞 組織을 恢復시킨다는 것이 實驗的으로 檢證되었으며, 小調中湯²⁸⁾은 糖質代謝와 脂質代謝 및 GOT 活性에 關與하여 肝機能 恢復에 有意한 것으로 報告되고 있다.

清肝散은 飲酒로 因하여 損傷된 肝 및 脾胃의 機能을 恢復시키기 위하여 創案된 處方으로, 構成 藥物의 效能을 살펴보면 茵陳^{7,14,40,-42)}은 清熱利濕, 除脾胃濕熱, 發汗 利尿 및 利膽하여 退黃疸하고, 葛根^{7,14,39,40-42)}은 解肌除煩, 發汗解熱, 生津止渴, 解酒毒하며, 乾薑^{7,14,40-42)}은 溫脾胃, 止嘔消痰하고, 澤瀉^{7,40,41,42)}는 泄熱, 利水滲濕, 止嘔消痰, 下氣하며, 白朮^{7,40,42)}은 健脾除濕, 利水, 消痰, 化癥癖한다고 하였으며, 이 藥物들은 모두 臨床的으로 酒傷證에 應用되고 있는 處方에서 多用되고 있었다.^{15,25,38)}

이러한 관점에서 清肝散은 利小便, 清熱滲濕, 補脾健胃의 效能을 中心으로 構成되었으며, 하 등²⁹⁾은 肝機能檢査上 正常 範圍를 벗어난 患者를 對象으로 清肝散을 投與하여 血清 GOT, GPT, γ -GTP의 恢復이 對照群에 比하여 높은 變化를 보임에 따라 肝 및 脾胃의 機能 恢復에 效果가 있음을 報告하였다. 이에 著者는 清肝散의 alcohol 解毒能과 alcohol性 肝疾患에 對한 豫防效果 實驗的으로 究明하기 爲하여 本 實驗을 試圖하였다.

alcohol에 의한 肝機能 損傷은 여러가지 症狀으로 나타날 수 있는데 細胞의 機能低下 라든지 細胞膜 構成成分의 變化를 招來하여 膜의 透過性이나 流動性의 變化로 나타날 수도 있다⁴³⁾. 또한 細胞膜에 多量 存在하는 磷脂質의 酸化 反應을 促進하여 過酸化脂質의 生成을 誘導할 수도 있다⁴⁴⁾. 過酸化脂質은 生體가 均衡을 잃었을 때 正常的인 脂質이 過酸化反應을 일으켜 生成되는 物質로, 결국에는 細胞單位의 損傷을 招來하여 病的인 狀態로 만드는 原因物質로 報告되고^{45,46,50)} 있으므로 肝組織中の 過酸化脂質을 測定 함으로서 肝機能의 損傷 程度를 가늠할 수 있다고 한다.

清肝散을 利用하여 試驗管內에서 肝組織 磨碎液으로 脂質의 過酸化反應에 미치는 影響을 觀察하였을 때 添加 濃度 依存的으로 脂質의 過酸化反應을 抑制시킴을 確認할 수

있었다. 그리고 이러한 作用이 生體內에서도 同一하게 나타나는지를 觀察할 目的으로 흰쥐에 淸肝散 抽出物을 經口 投與한 後 屠殺하여 肝臟을 摘出, 磨碎하여 過酸化脂質의 含量을 測定하였을 때 淸肝散의 投與濃度 依存的으로 過酸化脂質의 含量이 減少됨을 알 수 있었다. 이러한 結果들은 淸肝散이 肝組織 中에서 어떤 活性 性분이 脂質의 過酸化反應을 抑制시키는 抗酸化作用을 일으키므로서 過酸化脂質에 의한 肝損傷을 防止하거나 損傷된 肝을 恢復시킬 수 있을 것으로 類推할 수 있다.

外部로부터 毒性 物質이나 攻擊因子들이 體內로 流入되어 들어오면 內因性 防禦因子들이 動員되어 攻擊 因子를 無力化하므로서 生體를 保護할 수 있다. 이중 生體內的 代表的인 防禦因子로는 毒性物質들과 mercapturation 反應을 形成하여 이들을 外部로 排泄시키는 機能을 하는 tripeptide인 Glutathione을 들 수 있는데, 주로 肝에서 生合成되어 여러 組織에 골고루 分布하고 있다⁴⁷⁾. 攻擊 因子의 活性이 強하여 防禦因子와의 均衡이 깨어지게 되면 Glutathione의 消耗가 急增하여 窮極的으로는 生體內 濃度가 懸隔하게 減少되고 解毒 能力이 相當히 低下되게 되므로 毒性物質의 作用이 強하게 나타나게 되어 組織 損傷을 입게 된다⁴⁸⁾. 따라서 肝 組織中의 Glutathione의 含量을 觀察하여 肝損傷 程度를 豫測할 수도 있다.

實驗動物에 淸肝散 抽出物을 前處置한 後 急性 ethanol 毒性모델을 만들고 組織中의 Glutathione 含量을 測定하였을 때 ethanol 投與에 의해 顯著하게 減少된 Glutathione 含量이 淸肝散의 前處置한 實驗群에서는 正常水準으로 恢復되는 現狀을 觀察할 수 있었다. 이는 淸肝散이 毒性 物質의 解毒을 促進시켜 Glutathione의 消耗를 最大한 抑制시킨 結果로 解釋할 수 있다.

淸肝散의 肝機能 保護 效果를 보다 더 具體的으로 立證하기 위하여 臨床에서 肝損傷 程度를 測定하는 指標로 널리 利用되고 있는 ALT, AST 및 γ -GTP 活性^{31,49)}에 미치는 淸肝散의 活性에 對한 效果를 檢討 하였다. ALT나 AST, γ -GTP 모두 肝細胞의 少機關中 可溶性分劃에 多量 存在하는 酵素들이지만 어떤 原因에 의하여 肝이 損傷을 입어 細胞膜이 破壞되면 血液中으로 多量 流出되는 特性을 지니고 있는 酵素들^{31,49)}이므로 이 酵素들의 血中 流出은 곧 바로 肝損傷을 意味한다.

實驗動物에 淸肝散 抽出物을 一定期間 腹腔 投與한 後 急性 ethanol 毒性 모델을 만들었을 때 血清中の ALT 나 AST, γ -GTP 모두 ethanol 投與에 의해 對照群에 비해 有意性 있게 酵素 活性이 增加하였으나 淸肝散의 前處置에 의하여 세 酵素 모두 正常群 水準으로 抑制되었다.

結果를 綜合해 보면 淸肝散은 alcohol로 誘發된 肝損傷에서 酵素 活性을 增加시키고 過酸化脂質의 生成을 減少시키며 Glutathione 活性을 增加시키는 것으로 보아 alcohol에 의한 肝毒性을 減少시키는 것으로 推定되며, 앞으로 alcohol 代謝에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 alcohol 代謝 酵素 活性과 血中 ethanol 濃度 등에 關한 實驗이 뒤따라야 할 것으로 思料된다.

V. 結論

清肝散의 alcohol 解毒能과 alcohol性 肝疾患에 대한 豫防效果를 檢討하기 위하여 急性 ethanol 中毒 白鼠에 清肝散을 前處置한 後 過酸化脂質, Glutathione, 그리고 血清 ALT 와 AST, γ -GTP의 變化를 觀察해서 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 清肝散 抽出物은 試驗管內에서 添加濃度 依存的으로 肝組織中の 過酸化脂質 生成反應을 抑制시켰으며, 實驗動物에 7日間 投與한 後 肝組織의 過酸化脂質 含量을 測定하였을 때도 濃度 依存的으로 減少 效果가 나타났다.

2. 肝組織中の glutathione 含量은 ethanol 投與에 의해 顯著히 減少되었으나 清肝散의 前處置에 의해서 正常水準으로 恢復되었다.

3. 血清中の ALT, AST 및 γ -GTP 活性은 ethanol 投與群에서 有意性 있게 增加되었으나 清肝散의 前處置에 의하여 正常水準으로 恢復되었다.

參考文獻

1. Hardman, J. G., Limberd, L. E., Molinoff, P. B., Ruddon, R. W. and Gilman, A. G., *In The pharmacological basis of therapeutics*, McGraw-Hill press, 9th edition, 570 (1996)
2. 洪性媛 外, 酒傷의 觀察法에 對한 文獻的 考察, 大韓韓醫學會誌, 11(1) pp.9-10, p. 20, 1990.
3. 郭靄春 編註, 黃帝內經靈樞語譯, 天津, 天津科學技術出版社, p. 364, 1989.
4. 郭靄春 編註, 黃帝內經素問語譯, 서울, 一中社, pp. 271-272, 1991.
5. 巢元方, 巢氏諸病源候論, 台北, 集文書局, pp. 207-208, 255-256, 1976.
6. 周命新, 醫門寶鑑, 서울, 東洋綜合通信教育元出版部, pp. 112-113, 148, 160, 1987.
7. 許浚, 東醫寶鑑, 서울, 麗江出版社, pp. 2693-2694, p. 496, 1482, 1796, 1870, 1881, 2207, 2721, 2727, 2742, 1994.
8. 龔廷賢, 增補萬病回春, 서울, 杏林書院 p. 106, 176-178, 1972.
9. 羅天益, 衛生寶鑑, 香港, 商務印書館 pp. 32-33, 230-235, 1981.
10. 李用粹, 證治彙補, 台北, 萬葉出版社, pp.102-107, 1975.
11. 張介賓, 景岳全書, 서울, 杏林書院, pp. 306-307, 1980.
12. 張璐玉, 張氏醫通, 台北, 金藏書局, p. 81-82, 1975.
13. 康命吉, 濟衆新編, 서울, 杏林書院, pp. 313-320, 1982.
14. 李仲梓, 醫宗必讀, 台北文光圖書有限公司, p. 72, 74, 77, 83, 88, 93, 1977.
15. 禹弘楨, 葛花解醒湯이 Ethanol 中毒 흰쥐의 肝機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 七券, pp. 88-101, 1984.
16. 楊上善 撰註, 黃帝內經太素, 上海, 人民衛生出版社, p. 201, 205, 1983.
17. 張子和, 儒門事親, 台北, 千頃堂書局. pp. 71-74, p.159, 1980.

18. 程杏軒 撰: 醫述, 合肥, 安徽科學技術出版社, pp. 423-425, 1983.
19. 李 杲, 東垣十種醫書, 서울 大星文化社 pp 56-57, 119-120, 1983.
20. 樓 英, 醫學綱目, 台南, 北一出版社, 卷 21 pp.3-6, 1973.
21. 徐大椿, 徐靈胎 醫書全集, 台北, 五洲出版社, p. 69, 137, 141, 1981.
22. 吳 謙, 醫宗金鑑, 北京, 人民衛生出版社, pp. 608-610, 1982.
23. 王肯堂, 證治準繩, 서울, 翰成社, p.55, 1982.
24. 朱震亨, 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, p. 187, 188, 1982.
25. 朴定守, 加減葛花解醒湯이 Ethanol 中毒 흰쥐의 肝機能에 미치는 影響, 大邱韓醫大 大學院, 碩士學位論文, p.1, 1986.
26. 柳基遠, 酒傷病에 應用되는 加味對金飲子가 ethanol로 인한 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 3, 213-218, 1980.
27. 鄭容旭, 清肝健脾湯이 Ethanol로 인한 白鼠의 肝 및 胃組織 損傷에 미치는 影響, 東國大學校大學院, 碩士學位論文, p. 17, 1993.
28. 陳松根, Ethanol 投與 白鼠의 肝機能에 미치는 小調中湯의 效果에 關한 研究, 慶熙 大學敎大學院 博士學位論文, pp.1-2, 18, 1985.
29. 하재원 조종관,茵陳蒿湯(II) 엑기스散이 Alcohol性 肝疾患에 미치는 影響, 惠和醫學, Vol. 1, No.2, pp.190-194, 1993.
30. Petterson, H and Kiessling, K. H., Acetaldehyde occurrence in cerebrospinal fluid during ethanol oxidation in rats and its dependence on the blood level and on dietary factors. *Biochem. Pharmacol.*, **26**, 237(1977)
31. Reitman, S. and Frankel, S., A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic acid and glutamic pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Pathol.*, **28**, 58 (1957)
32. Divon, D. M., Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in diseases of the liver and gallbladder(except infectious jaundice), *Vnitr. Lek.*, **15**, 347 (1969)
33. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K., Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979)
34. Ellman, G. L., Tissue sulfhydryl group. *Arch. Biochem. Biophys.*, **82**, 70(1959)
35. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
36. 虞 博, 醫學正傳, 서울, 醫學社, pp. 147-148, 294-295, 538-539, 1972.
37. 李 梴, 醫學入門, 서울, 大星文化社, pp. 143-144, 1984.
38. 趙相燮, 葛花解醒湯이 마우스의 알콜代謝에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 博士學位論文, p.4, 1989.
39. 安德均 外, 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p. 79, 105, 177, 1982.
40. 康秉秀 外, 本草學, 서울, 永林社, p.148, pp.305-306, 328-329, 334-335, 536-557. 1991.

41. 孫星衍, 孫馮翼 輯, 神農本草經, 北京, 文光圖書有限公司北京, p. 43, 55, 81,136, 138, 1982.
42. 李時珍, 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp, 733-734, 941-942, 1276-1278, 1349-1351, 1557-1576, 1625-1627, 1982.
43. Lee, N. M., Friedman, H. and Loh, H. H., Effect of acute and chronic ethanol treatment on rat brain phospholipid turnover, *Biochem. Pharmacol.*, **21**, 2815 (1980)
44. Johnson, D. A., Lee, N. M., Cooke, R. and Loh, H. H., *Mol. Pharmacol.*, **15**, 739 (1979)
45. Milan, L., Jozef, R., Vilian, K., Peter, P. and Ladislav, V., Free radicals in chemistry and biology, CRC Press, p29, p283 (1989)
46. Pryor, W. A., Free radical in biology : Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry, Elsevier, Amsterdam. 331 (1977)
47. Boyland, E. and Chasseud, L. F., The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *Adv. Enzymol.*, **32**, 173 (1969)
48. Ross, D., Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents : Mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. *Pharmacol. Ther.*, **37**, 231 (1988)
49. Karmen, A., A noted on the spectrophotometric assay of glutamic oxalocactic transaminase in human blood serum. *J. Clin. Invest.*, **34**, 131(1955)