

固眞飮子가 galactosamine으로 유발한 흰쥐의 간중독에 미치는 영향

원철환 · 정승현 · 임성우 · 신길조 · 윤상협 · 이원철

동국대학교 한의과대학 내과학교실 · 경희대학교 분당한방병원 내과

〈초록〉 최근 간질환에 대한 진단과 기술의 비약적인 발전에도 불구하고 치료방법론에서는 그 해결이 모호한 상태에 직면해 있다. 실험적으로 간중독을 유발시킨 동물에 약물을 투여하여 그 악화를 입증하려는 노력이 진행되고 있다. 이에 저자는 固眞飮子가 간독성의 완화효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 固眞飮子추출물을 투여한 흰쥐에 galactosamine으로 간독성을 유발하고 간조직내 glutathione과 과산화지질의 함량, 혈청중의 GOT, GPT, γ -GPT, ALT, LDH의 효소활성측정 및 혈청중의 bile acid함량을 측정하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었다. glutathione의 함량은 固眞飮子를 전처치한 실험군에서 유의성 있게 증가하였고, 과산화지질, 혈청중 GOT, GPT, γ -GPT, ALT, LDH, bile acid는 고진음자를 전처치한 실험군에서 유의성있게 감소하였다.

중심 낱말 : 고진음자(固眞飮子), 간중독(肝中毒), galactosamine.

I. 緒 論

正氣는 眞氣 또는 元氣라고도 하며, 外邪의 침입으로부터 인체를 방어하고 臟腑經絡 榮衛 氣血의 정상적인 생리기능을 회복하는 역할을 담당하고 있다¹⁾.

腎은 元氣를 발생하고 자극하여 생명활동을 유지시키는 작용을 하며, 인체의 각 조직과 기관의 생리활동을 촉진시키므로 腎의 元氣가 쇠약하면 인체의 正氣도 쇠약하게 된다²⁾.

固眞飮子는 腎陰腎陽을 固攝하여 元氣를 補하는 약으로 陰陽兩虛 · 氣血不足으로 인해 발생하는 증상에 사용되며, 中年이후에 발생하는 각종 성인병의 예방 및 간질환에 응용될 수 있다^{2,5,17)}.

최근 간질환에 대한 진단과 기술의 비약적인 발전에도 불구하고 치료방법론에서는 그 해결이 모호한 상태에 직면해 있으나, 실험적으로 간중독을 유발시킨 동물에 약물을 투여하여 그 악화를 입증하려는 노력이 진행되고 있으며, 그 유효성이 보고된 바 있다^{6,18)}.

Galactosamine은 생체구성성분속에 존재하며 간장애를 일으키는 작용을 가진 약물로, 조직학적으로 virus성 간염과 유사하고 대사과정에서 RNA 합성장애를 일으킨다고 알려져 있다^{12,19)}.

따라서 galactosamine에 의한 대사장애로 발생하는 간중독에 생명활동의 원동력이 되는 腎陰腎陽을 固攝하여 인체의 正氣를 強化시켜 정상적인 생리기능을 회복시킴으로써 독성이 완화될 수 있으리라 생각된다.

이에 저자는 固眞飮子가 간독성의 완화효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 固眞飮子 추출물을 투여한 흰쥐에 galactosamine으로 간독성을 유발하고 간조직내 glutathione과 과산화지질의 함량, 혈청중의 GOT·GPT· γ -GTP·ALP·LDH의 효소활성측정 및 혈청중의 bile acid 함량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 재 료

1) 약 재

실험재료는 方藥合編²⁾에 준하여 동국대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 1貼의 내용과 분량은 다음과 같다.

약명	학명	용량
熟地黄	(Rehmanniae Radix Vapratum)	5.62g
山藥	(Dioscoreae Radix)	3.75g
人蔘	(Ginseng Radix)	3.75g
當歸	(Angelicae sinensis Radix)	3.75g
黃芪	(Astragali Radix)	3.75g
黃柏	(Phellodendri Cortex)	3.75g
陳皮	(Aurantii Nobilis Pericarpium)	3.00g
白茯苓	(Hoelen)	3.00g
杜仲	(Eucommiae Cortex)	2.62g
甘草	(Glycyrrhizae Radix)	2.62g
白朮	(Atractylodis Macrocephalae Rhisoma)	1.87g
澤瀉	(Alismatis Rhisoma)	1.87g
山茱萸	(Corni Fructus)	1.87g
破故紙	(Psoraleae Semen)	1.87g
총량		43.09g

2) 동 물

실험동물은 일정한 조건하에서 사육한 건강한 체중 200g 내외의 雄性 sprague-dawley계 흰쥐를 사용하였다.

3) 시약 및 기기

galactosamine, bovine serum albumine, thio-barbituric acid(TBA), malon dialdehyde(MDA), glutathione reduced form, sodium dodecyl sulfate(SDS), 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid), sulfosalicylic acid는 Sigma사에서 구입하였으며, glutamate oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 측정용 kit, γ -glutamy-l transpeptidase(γ -GTP) 측정용 kit, alkaline phosphatase(ALP) 측정용 kit, lactate dehydrogenase(LDH) 측정용 kit는 Eiken사의 것을, bile acid 측정용 kit는 극동제약에서 구입하여 사용하였다.

그외 실험에 사용한 모든 시약들은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다.

2. 방 법

1) 검액의 조제

固眞飮子 10貼(430.9g) 분량에 3배량의 증류수를 가한 다음 100°C에서 24시간 간격으로 3회 반복추출하여 여과한 후, 여액을 회전증발 감압농축기를 사용하여 固眞飮子 추출물 48.6g을 얻었다.

2) 동물의 처치

실험동물은 4개의 군(정상군, 대조군, 실험군 A, 실험군 B)으로 나누었다. 정상군은 증류수 2.5ml/kg을 8일간 경구투여하였으며, 대조군은 증류수를 8일간 경구투여한 후 galactosamine 800mg/kg을 1일간 복강주사³⁾하였다. 실험군 A는 固眞飮子 추출물을 증류수에 희석하여 500mg/kg씩 8일간 경구투여하였으며, 실험군 B는 固眞飮子를 8일간 경구투여한 후 gal-actosamine 800mg/kg을 1일간 복강주사³⁾하였다.

모든 실험동물들은 실험전 16시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

3) 생체시료의 조제

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정맥을 따라 개복하여, 복부대동맥에서 채혈한

후, 생리식염수로 관류시킨 간장을 적출하여 식염수로 깨끗이 씻고 여지로 남아 있는 혈액 및 생리식염수를 제거한 후, 조직 1g당 4배량의 0.1 M potassium · phosphate buffer(pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 마취하여 균질액을 만들었다. 이 마취균질액을 glutathione 및 과산화지질의 함량측정시료로 사용하였다.

한편, 채혈한 혈액은 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 혈청을 분리하여 GOT, GPT, γ -GTP, ALP, LDH 및 bile acid 측정효소원으로 사용하였다.

상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는한 0~4°C에서 행하였다.

4) Glutathione의 함량 측정

간조직내 glutathione의 함량측정은 Ellman 등의 방법²¹⁾에 준해 실시하였다. 간조직 마취균질액 일정량에 증류수와 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 원심분리하여 얻은 상층액 0.3ml에 disulfide 시액 2.7ml를 가하여 실온에서 10분간 방치하였다. 이것을 파장 412 nm에서 맹시험을 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다.

5) 과산화지질의 함량 측정

간조직내 과산화지질의 함량측정은 Ohkawa 등의 방법²²⁾에 준해 실시하였다. 간조직 마취균질액 일정량에 8.1% SDS 용액, 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 0.8% TBA 용액을 가하여 95°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 실온으로 냉각하여 생성된 홍색의 TBA 반응산물을 n-butanol : p-rydine(15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다.

6) 효소활성의 측정

(1) 혈청 GOT 및 GPT 활성 측정

Reitman 과 Frankel의 방법²³⁾에 따라 조제된 kit 시약을 사용하여 측정하였다. GOT(100ml 당 L-aspartic acid 2,660mg 및 α -ketoglutaric acid 29.2mg함유), GPT(100ml 당 DL-alanine 1,780mg 및 α -ketoglutaric acid 29.2mg함유) 기질액 1.0 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한

다음, 혈청 0.2ml을 넣어 37°C에서 GOT는 60분간, GPT는 30분간 반응시킨 뒤 정색시액(2,4-dinitrophenylhydrazinl : 100ml 당 19.8mg 함유) 1.0ml을 첨가하여 반응을 종료시키고, 0.4 N-NaOH 용액 10ml을 가하여 잘 혼합한 다음 약 10분간 방치하였다가 파장 505nm에서 흡광도의 변화를 측정하였으며, 혈청중 GOT, GPT의 활성도는 Karmen unit/ml²⁶⁾로 나타내었다.

(2) 혈청중 γ -GTP 활성 측정

혈청중 γ -GTP의 활성측정은 Divon의 방법²⁴⁾을 변형하여 측정하였다. 기질액 1.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 가온한 다음, 혈청 일정량을 가하여 잘 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시킨다. 이 반응액에 정색시액 3.0ml을 가하여 10분간 실온에 방치한 다음 60분 이내에 맹검을 대조로하여 파장 565nm에서 생성된 p-nitroaniline의 흡광도를 측정하였다.

(3) 혈청중 ALP 활성 측정

혈청중 ALP 활성측정은 Petkova 등의 방법²⁵⁾에 따라 조제된 kit를 사용하여 실시하였다. 기질액 2.0ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 가온한 다음 여기에 혈청 적당량을 가하여 잘 혼합한 후 37°C에서 15분간 반응시켰다. 정색시액 2.0ml를 넣고 충분히 혼합한 다음 실온에서 10분간 방치시키고 60분 이내에 맹검을 대조로 파장 500nm에서 흡광도로 측정하였다.

(4) 혈청중 LDH 활성 측정

혈청중 LDH의 측정은 Cabaud Wroblewski의 방법²⁶⁾에 따라 실시하였다. 시험관에 기질액 1 ml와 NADH2액 1ml를 넣고 잘 혼합한 후 37°C의 항온수조에 약 5분간 방치하고, 증류수로 6배 희석한 피검혈청 0.1ml를 다시 첨가하여 혼합한 후 30분간 항온수조에 방치하였다. 그 후 정색시액 1ml를 첨가 혼합하고 실온에서 20분간 방치, 다시 0.4N NaOH solution 10ml를 첨가 혼합하여 30분간 방치시킨 후 500nm에서 흡광도를 측정하고 작성한 검량선에서 단위를 산출하였다.

(5) 혈청중 Bile acid의 함량 측정

혈청중 bile acid의 함량측정은 Mashige 등의 방법²⁷⁾에 준해 조제된 kit를 이용하여 정량하였

다.

혈청 일정량에 3- α -hydroxysteroid, NAD⁺, nitroblue tetrazolium(NBT) 및 diaphorase를 함유하는 효소시액을 0.5ml 가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 뒤 NBT로부터 diaphorase에 의해 생성된 diformazan을 파장 540nm에서 흡광도를 측정하여 bile acid의 함량을 표준혈청의 흡광도와 비교하여 산정하였다.

(6) 단백질 정량 및 실험성적의 통계처리

Lowry 등의 방법²⁷⁾에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질을 정량하였고, 실험성적의 유의성 검증은 student's t-test를 이용하여 상호비교하였다.

III. 實驗成績

1. Glutathione 함량 변화

실험동물에 固眞飲子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galac-tosamine으로 간독성을 유발하였을 때 정상군의 glutathione 함량은 4.06 ± 0.10 μ mole/g인데 비해 대조군은 2.65 ± 0.19 μ mole/g으로 현저하게 감소되었으나, 실험군 A는 3.98 ± 0.11 μ mole/g으로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 3.16 ± 0.09 μ mole/g으로 대조군에 비해 P<0.01로 유의성있게 증가되었다 (Table I).

Table I. Effect of the Kojinyumja Extract on the Content of Hepatic Glutathione in Galactosamine-Treated Rats.

Group	GSH μ mole/g of tissue
Normal	4.06 ± 0.10
Control	2.65 ± 0.19
Sample A	3.98 ± 0.11
Sample B	3.16 ± 0.09 ##

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) on the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) on the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.01)

2. 과산화지질 함량 변화

실험동물에 固眞飲子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galac-tosamine으로 간독성을 유발하였을 때 정상군의 과산화지질 함량은 10.61 ± 0.64 nmole/g인데 비해 대조군은 $31.08 \pm$

1.07 nmole/g으로 약 3배 정도 증가되었으나, 실험군 A는 11.39 ± 0.81 nmole/g으로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 25.35 ± 0.78 nmole/g으로 대조군에 비해 P<0.05로 유의성있게 감소되었다(Table II).

Table II. Effect of the Kojinyumja Extract on the Level of Hepatic Lipid Peroxide in Galactosamine-Treated Rats.

Group	MDA nmole/g of tissue
Normal	10.61 ± 0.64
Control	31.08 ± 1.07
Sample A	11.39 ± 0.81
Sample B	25.35 ± 0.78 #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.05)

3. 혈청중 GOT 및 GPT 활성 변화

실험동물에 固眞飮子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유발하였을 때 혈청중 GOT 활성은 정상군이 43.9 ± 1.2 Karmen unit/ml인데 비하여 대조군은 89.9 ± 1.9 Karmen unit/ml로 약 2배이상 증가되었으나, 실험군 A는 48.1 ± 3.8 Karmen unit/ml로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 68.5 ± 2.1 Karmen unit/ml로 대조군에 비해 p%0.01로 유

의성있게 감소되었다(Table III).

혈청중 GPT 활성은 정상군이 26.3 ± 1.5 Karmen unit/ml인데 비해 대조군은 95.5 ± 3.8 Karmen unit/ml로 약 4배 정도 증가되었으나, 실험군 A는 30.2 ± 1.7 Karmen unit/ml로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 66.9 ± 3.3 Karmen unit/ml로 대조군에 비해 p<0.01로 유의성있게 감소되었다(Table IV).

Table III. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of Serum GOT in Galactosamine-Treated Rats.

Group	Karmen unit/ml of serum
Normal	43.9 ± 1.2
Control	89.9 ± 1.9
Sample A	48.1 ± 3.8
Sample B	68.5 ± 2.1 # #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.01)

Table IV. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of Serum GPT in Galactosamine-Treated Rats.

Group	Karmen unit/ml of serum
Normal	26.3± 1.5
Control	95.5± 3.8
Sample A	30.2± 1.7
Sample B	66.9± 3.3 # #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.01)

4. 혈청중 γ -GTP 활성 변화

실험동물에 固眞飮子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유발하였을 때 혈청중 γ -GTP 활성은 정상군이 43.50± 1.23 p-nitroaniline nmole/ml인데 비하여 대조군은 86.82± 2.61 p-nitroaniline nmole/ml로

약 2배 정도 증가되었으나, 실험군 A는 50.19± 3.26 p-nitroaniline nmole/ml로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 73.53± 2.41 p-nitroaniline nmole/ml로 대조군에 비해 p%0.05로 유의성있게 감소되었다(Table V).

Table V. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of Serum γ -GTP in Galactosamine-Treated Rats.

Group	p-nitroaniline nmole/ml
Normal	43.50± 1.23
Control	86.82± 2.61
Sample A	50.19± 3.26
Sample B	73.53± 2.41 #

- 원철환외 5인 : 固眞飮子가 galactosamine으로 유발한 흰쥐의 간중독에 미치는 영향 -

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.05)

5. 혈청중 ALP 활성 변화

실험동물에 固眞飮子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galac-tosamine으로 간독성을 유발하였을 때 혈청중 ALP 활성은 정상군이 41.18±1.37 King-Amstrong unit/dl인데 비하여 대조군은 84.64±2.08 King-Amstrong unit/dl로

약 2배이상 증가되었으나, 실험군 A는 42.49±2.96 King-Amstrong unit/dl로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 72.05±2.78 King-Amstrong unit/dl로 대조군에 비해 p<0.05로 유의성 있게 감소되었다(Table VI).

Table VI. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of Serum ALP in Galactosamine-Treated Rats.

Group	King-Amstrong unit/dl of serum
Normal	41.18±1.37
Control	84.64±2.08
Sample A	42.49±2.96
Sample B	72.05±2.78 #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.05)

6. 혈청중 LDH 활성 변화

실험동물에 固眞飮子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유발하였을 때 혈청중 LDH 활성은 정상군이

768.5±29.28 Wroblewski unit인데 비하여 대조군은 1513.8±41.45 Wroblewski unit로 약 2배 이상 증가되었으나, 실험군 A는 809.72±17.32 Wroblewski unit로 정상군과 차이가 없었으며,

실험군 B는 998.84 ± 47.88 Wroblewski unit로 대조군에 비해 $p < 0.01$ 로 유의성있게 감소되었다 (Table VII).

Table VII. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of LDH in Galactosamine-Treated Rats.

Group	Wroblewski unit
Normal	768.5 ± 29.28
Control	$1,513.8 \pm 41.45$
Sample A	809.72 ± 17.32
Sample B	998.84 ± 47.88 # #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group($p < 0.01$)

7. 혈청중 Bile acid 함량 변화

실험동물에 固眞飮子 추출물(500mg/kg)을 8일간 경구투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유발하여 혈청중의 bile acid의 활성변화를 측정하였을 때 정상군은 39.52 ± 1.43 $\mu\text{mole/dl}$ 인데 비하여 대조군은 95.45 ± 3.40 $\mu\text{mole/dl}$ 로 혈청

중의 bile acid의 활성이 약 2배이상 증가되었으나, 실험군 A는 41.56 ± 2.26 $\mu\text{mole/dl}$ 로 정상군과 차이가 없었으며, 실험군 B는 bile acid의 활성이 76.69 ± 2.56 $\mu\text{mole/dl}$ 로 대조군에 비하여 $P < 0.01$ 로 유의성있게 감소되었다(Table VIII).

Table VIII. Effect of the Kojinyumja Extract on the Activity of Bile Acid in Galactosamine-Treated Rats.

Group	$\mu\text{mole/dl}$ of serum
Normal	39.52 ± 1.43
Control	95.45 ± 3.40
Sample A	41.56 ± 2.26
Sample B	76.69 ± 2.56 # #

Normal group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days.

Control group were administered water(2.5ml/kg p.o) for 8days, and injected galactosamine(800 mg/kg i.p) for the last 1day.

Sample A were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) for 8days.

Sample B were administered the Kojinyumja extract(500mg/kg p.o) or 8days, and injected galactosamine(800mg/kg i.p) for the last 1day.

The assay procedure was described in the experimental methods.

: significantly different from galactosamine-treated group(p<0.01)

IV. 考 察

韓醫學에서 正氣는 각종 外邪의 침입에 대하여 인체를 방어하는 能力으로 眞氣 또는 元氣로도 표현되어지며, 臟腑經絡 榮衛氣血의 정상적인 생리기능을 포괄하고 있다¹²⁾.

腎은 元氣를 발생하고 자극하여 五臟六腑의 精氣를 滋養하고 생명활동을 유지시키는 원동력이 되어 인체의 각 조직과 기관의 생리활동을 촉진하므로 腎의 元氣가 쇠약하면 인체의 正氣도 쇠약하게 되며, 元氣가 충만하면 正氣도 충만하게 된다¹³⁾.

固眞飮子は 眞陽과 眞陰 즉, 腎陽과 腎陰을 固攝하는 處方으로 陰陽兩虛, 氣血不足으로 인해 나타나는 飮食少, 五心熱, 自汗, 日晡潮熱, 精氣滑脫, 行步無力, 腰痠疲冷, 頭暈耳鳴, 口乾咽痛, 兩靨潮紅 등의 증상에 사용되며, 熟地黄, 山藥, 人蔘, 當歸, 黃芪, 黃柏, 陳皮, 白茯苓, 杜沖, 甘草, 白朮, 澤瀉, 山茱萸, 破故紙로 구성되어 있다^{25,17)}.

또한 固眞飮子は 中年이후에 발생하는 각종 성인병의 예방과 虛損으로 인해 나타나는 간질 환에도 응용될 수 있다^{25,17)}.

최근 간질환에 대한 진단과 기술의 비약적인 발전에도 불구하고 치료방법론에서는 그 해결이 도호한 상태에 직면해 있으나, 임상적으로 널리 이용되고 있는 약물의 효능을 입증하기 위하여 실험적으로 간중독을 유발시킨 동물에 약물을 투여하여 객관화하려는 연구가 여러 방면에서 진행되고 있다. 이와 관련된 실험보고로는 郭⁶⁾의 胃苓湯 및 茵陳五苓散이 galactosamine에 의한 白鼠의 간손상에 미치는 영향, 朴¹²⁾의 淸肝湯이

CCl₄ 및 d-galactosamine에 의해 유발된 실험적 흰쥐 간장해에 미치는 영향, 金⁵⁾의 益黃散이 galactosamine으로 유발된 간중독 흰쥐에 미치는 영향, 李¹³⁾의 生肝湯이 CCl₄ 및 d-galactosamine에 의하여 유발된 실험적 흰쥐 간장해에 미치는 영향 등이 있었고, 金^{7,10,11,14,15,16)} 등이 여러 처방들을 실험적으로 야기시킨 간중독에 투여하여 그 유효성을 보고하였다.

Galactosamine은 생체구성성분속에 존재하며 간장애를 일으키는 작용을 하는 약물로, 조직학적으로 virus성 간염과 유사하고 대사과정에서 RNA 합성장애를 일으킨다고 알려져 있다^{12,13)}.

따라서 galactosamine에 의한 대사장애로 발생하는 간중독에 생명활동의 원동력이 되는 腎陰腎陽을 固攝하여 인체의 正氣와 정상적인 생리기능의 회복으로 독성이 완화될 수 있으리라 생각된다.

이에 저자는 固眞飮子가 간독성의 완화효과에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 固眞飮子 추출물 500mg/kg을 8일간 경구투여한 흰쥐에 galactosamine을 1일간 복강주사하여 간독성을 유발한 다음 간조직내 glutathione과 과산화지질의 함량, 혈청중의 GOT·GPT·γ-GTP·ALP·LDH의 효소활성측정 및 혈청중의 bile acid 함량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

Glutathione은 생체내 여러 장기에 다량 분포하는 내인성 물질로 주로 간에서 생성성이 이루어지며, 독성물질과 포함반응을 하여 배설시키므로써 독성물질에 대한 생체방어작용을 담당하여 독성물질로 인한 중독의 지표로 사용되고 있다²⁶⁾.

간조직내 glutathione 함량변화는 정상군이 4.

06±0.10 μmole/g인데 비해 생리식염수만을 투여한 대조군은 2.65±0.19 μmole/g로 현저하게 감소되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 3.16±0.09 μmole/g로 대조군에 비해 유의성있게 증가되어(P<0.01), 固眞飮子 前處置가 glutathione의 생합성 파괴에 대한 보호작용이 있는 것으로 생각된다. 과산화지질은 세포독성을 측정하는 지표의 하나로서 독성물질에 의해 간세포가 파괴되면 다량으로 생성되는데, 이는 간세포막에 존재하는 다가불포화지방산이 독성물질에 의해 과산화반응이 촉진되어 나타나는 현상으로 알려져 있다²⁰⁾.

간조직내 과산화지질의 함량변화는 정상군이 10.61±0.64 nmole/g인데 비해 대조군은 31.08±1.07 nmole/g로 약 3배 정도 증가되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 25.35±0.78 nmole/g로 대조군에 비해 유의성있게 감소되어(P<0.05), 固眞飮子 前處置가 독성물질에 대한 간세포파괴를 억제시키므로써 세포막에 존재하는 다가불포화지방산의 산화가 저하된 것으로 생각된다.

GOT·GPT는 세포의 가용성분획에 많이 분포하고 있는 amino기 전이효소로서 외부 독성물질에 의한 세포막 손상으로 세포가 파괴될 때 GOT·GPT 효소는 혈중으로 다량유출되고, 간조직내 GOT·GPT 효소활성은 상대적으로 감소되기 때문에 임상에서 간기능 및 손상정도를 측정하는 지표로 널리 이용되고 있다²¹⁾.

혈청중 GOT 활성변화는 정상군이 43.9±1.2 Karmen unit/ml인데 비하여 대조군은 89.9±1.9 Karmen unit/ml로 약 2배이상 증가되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 68.5±2.1 Karmen unit/ml로 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다(p<0.01).

혈청중 GPT 활성변화는 정상군이 26.3±1.5 Karmen unit/ml인데 비해 대조군은 95.5±3.8 Karmen unit/ml로 약 4배 정도 증가되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 66.9±3.3 Karmen unit/ml로 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다(p<0.01). 이는 固眞飮子 前處置가 세포

막을 보호함으로써 간세포내의 GOT·GPT가 혈중으로 유출되는 것을 방지하여 간세포내에서의 활성저하와 혈중 GOT·GPT의 활성증가를 억제한 것으로 생각된다.

γ-GTP도 GOT·GPT와 마찬가지로 세포분획중 가용성분획에 다량으로 분포하는 효소로서 세포독성에 의해 세포막이 파괴되었을 때 혈액중으로 다량유출되는 것으로 알려져 있어 혈중 γ-GTP 활성의 증가현상을 관찰하여 세포독성 여부를 알 수 있다²⁰⁾.

혈청중 γ-GTP 활성변화는 정상군이 43.50±1.23 p-nitroaniline nmole/ml인데 비하여 대조군은 86.82±2.61 p-nitroaniline nmole/ml로 약 2배 정도 증가되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 73.53±2.41 p-nitroaniline nmole/ml로 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다(p<0.05). 이는 固眞飮子 前處置가 독성물질에 의한 간세포 파괴에 보호작용을 하므로써 γ-GTP가 혈중으로 유출되는 것을 억제시킨 것으로 생각된다.

ALP(alkaline phosphatase)는 가수분해효소의 하나로서 세포분획중 가용성분획에 다량으로 분포되고 있으며, 肝炎·paget disease 및 骨髓癌 등의 질환이 있을 때 혈중 ALP의 분포량이 증가된다고 알려져 있어 혈액중의 ALP 활성을 측정함으로써 간기능 손상여부를 예측할 수 있다²²⁾.

혈청중 ALP 활성변화는 정상군이 41.18±1.37 King-Amstrong unit/dl인데 비하여 대조군은 84.64±2.08 King-Amstrong unit/dl로 약 2배이상 증가되었으나, 固眞飮子로 前處置한 실험군 B는 72.05±2.78 King-Amstrong unit/dl로 대조군에 비해 유의성있게 감소되어(p<0.05), 固眞飮子 前處置가 세포파괴를 보호하므로써 혈중 ALP 활성의 증가를 억제하는 것으로 생각된다.

LDH(lactate dehydrogenase)도 세포분획중 가용성분획에 존재하는 효소로서 심장질환이나 간장질환시 혈액중의 분포량이 정상상태보다 증가되는 것으로 보고되고 있어 간기능을 측정하는 지표가 된다²³⁾.

혈청중 LDH 활성변화는 정상군이 768.50±29.

28 Wroblewski unit인데 비하여 대조군은 1513.80±41.45 Wroblewski unit로 약 2배이상 증가되었으나, 실험군 B는 998.84±47.88 Wroblewski unit로 대조군에 비해 유의성있게 감소되어(p<0.01), 固眞飮子로 前處置한 경우에 효소활성도가 유의성있게 감소되었다.

담즙성분은 간세포의 모세담관막이나 세담관에 의해 분비되며, bile acid는 담즙분비에 가장 많은 영향을 주는 물질로서 간독성이 심하게 유발되면 독성물질의 배설을 촉진시키기 위하여 담즙배출량이 현저하게 증가되므로 혈액중의 bile acid의 농도는 간기능을 측정하는 중요한 방법의 하나이다²⁴⁾.

혈청중 bile acid 함량변화는 정상군은 39.52±1.43 μmole/dl이었으나, 대조군은 95.45±3.40 μmole/dl로 혈중의 bile acid의 활성이 거의 2배이상 증가되었다. 그러나 실험군 B는 bile acid의 활성이 76.69±2.56 μmole/dl로 대조군에 비하여 유의성있게 감소되었는데(P<0.01), 이는 固眞飮子가 독성물질인 galactosamine의 배설을 증가시키기 때문에 나타나는 것으로 생각된다.

이상의 모든 결과를 종합해보면 固眞飮子가 독성물질에 의한 간세포의 파괴로부터 생체보호효과를 지니고 있고, 간독성의 완화에 대한 유의한 효과가 있음을 관찰할 수 있었다. 이는 固眞飮子가 인체의 正氣와 정상적인 생리기능을 강화하여 독성을 완화시킨 것으로 생각할 수 있으나, 간손상의 치료에 응용될 수 있을지는 추후 연구되어야 할 것으로 생각된다.

V. 結 論

固眞飮子가 galactosamine으로 유발한 간독성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 固眞飮子추출물을 흰쥐에 투여한 후 galactosamine으로 간독성을 유발하였을 때 간조직내의 glutathione과 과산화지질의 함량, 혈청중의 GOT·GPT·γ-GTP·ALP·LDH의 효소활성측정 및 혈청중의 bile acid 함량을 측정하여 다음과 같은

결과를 얻었다.

1. Glutathione의 함량은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 증가되었다.
2. 과산화지질의 함량은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.
3. 혈청중 GOT 및 GPT의 활성은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.
4. 혈청중 γ-GTP 활성은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.
5. 혈청중 ALP 활성은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.
6. 혈청중 LDH 활성은 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.
7. 혈청중 Bile acid 함량변화는 固眞飮子를 前處置한 실험군에서 유의성있게 감소되었다.

VI. 參 考 文 獻

1. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울: 成輔社, 1988: 281-90.
2. 申載鏞. 新增補方藥合編解說. 서울: 成輔社, 1991: 41-2.
3. 李三悅, 鄭允燮. 臨床病理檢査法. 서울: 延世大學校出版部, 1983: 218-20.
4. 안덕균. 면역과 한방. 서울: 열린책들, 1996: 19-40
5. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂, 1992: 670.
6. 郭 燮. 胃苓湯 및 茵陳五苓散이 galactosamine에 의한 白鼠의 肝損傷에 미치는 영향. 圓光大學校大學院, 碩士學位論文, 1993.
7. 金德鎬. 柴胡清肝湯이 CCL₄ 中毒 白鼠의 肝損傷에 미치는 영향에 관하여. 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1994.
8. 金來元. 利腎清肝湯이 CCL₄ 및 昇汞 中毒 白鼠의 肝腎機能에 미치는 영향. 慶熙韓醫大論文集. 1981: 4: 89-102.
9. 金美志. 益黃散이 galactosamine으로 誘導한 肝中毒 흰쥐에 미치는 영향. 東國大學校大學院, 碩士學位論文, 1995.

10. 金興鎬. 小柴胡湯加鹿茸이 CCl₄ 中毒 Rat의 肝機能 回復에 미치는 영향. 尚志大學校大學院, 碩士學位論文, 1994.
11. 金昊顯, 申興默, 金吉萱. Cyclosporin A의 肝毒性에 미치는 右歸飲의 영향. 東國大學校韓醫大研究所論文集, 1993 : 2(2) : 1-16
12. 朴尙伯. 清肝湯이 CCl₄ 및 d-galactosamine에 의해 誘發된 實驗的 慢性 肝障害에 미치는 영향. 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1986.
13. 李昌奎. 生肝湯이 CCl₄ 및 d-galactosamine에 의해 誘發된 實驗的 慢性 肝障害에 미치는 영향. 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1986.
14. 鄭成忠. 生肝健脾湯이 TAA로 誘發된 慢性 肝損傷에 미치는 영향에 관한 研究. 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1983.
15. 趙恒旭. 茵陳五 散(湯液)이 CCl₄ 中毒으로 인한 白鼠 損傷肝의 治療效果에 對한 實驗的 研究. 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1972.
16. 崔榮植. 人蔘이 CCl₄ 中毒 慢性의 肝損傷에 미치는 영향에 관한 研究. 大韓韓醫學會誌 1987 : 9(2) : 87-97.
17. 李 梈. 校編註醫學入門(下). 서울 : 大成文化社, 1994 : 687.
18. 熊崎平藤. 岐醫大紀. 日本, 1958 : 6 : 94.
19. Albert L. Lehninger. 生化學. 서울 : 서울外國書籍, 1988 : 496.
20. Divon, D. M. Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in diseases of the liver and gallbladder(except infectious jaundice), Vnitr. Lek., 1969 : 15(4) : 347-53.
21. Ellman, G. L. Tissue sulfhydryl group, Arch. Biophys., 1959 : 82 : 70-7.
22. Higashi, T., Tateishi, N. and sakamoto, Y. Liver glutathione as a reservoir of L-cystine. In : Sulfur Amino Acids, : Biochemical and Clinical Aspects, Alan R. Liss, New York, 1983 : 397-410.
23. Garg, S. K., Makkar, H. P., Nagal, K. B., Sharma, S. K. Wadh-wa, D. R. and Singh, B. Oak(Quercus incana) leaf poisoning in cattle, Vet. Hum. Toxicol., 1992 : 34(2) : 161-4.
24. Glynn, L. E. and Himsworth, H. P. The intracellular circulation in active liver injury by carbon tetrachloride Clin. Sci, 1948 : 6 : 235.
25. Karmen, A. A noted on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum, J. Clin. Invest., 1955 : 34 : 131-3.
26. Konobu, K., Yamamoto, E., Toyomoto, M. and Sawanishi, K. Effect of uremic middle molecules removed during hemofiltration on the enzyme activity in rat liver cystol, Nippon-Jinzo-Gakkai-shi, 1991 : 33(1) : 11 05-10.
27. Lowry, O. H., Rosehrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 1951 : 193 : 265-75.
28. MacDonald, J. R. Thayer, K. J. and White, C. Inhibition of galactosamine cytotoxicity in an in vivo/in vitro hepatocellular toxicity model, Toxicol. Appl. Pharmacol., 1987 : 89 (2) : 269-77.
29. Mashige F., Tanaka N., Maki A., Kamei S., and Yananaka M. Clinical Chemistry 27, 1981 : 8 : 1352-6.
30. Ohkwa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. Assay for lipid peroxide in animal tissue by thio-barbituric acid reaction, Anal Biochem., 1979 : 95 : 351-8.
31. Petkoba, J., Popova, N. and Kemileva, Z. Changes of enzyme activity in some organs following thymectomy, Agressologie., 1973 : 14(5) : 323-6.
32. Reitman, S. and Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, Am. J. Clin. Patol., 1957 : 28 :

58-63.

33. Suematsu, T. and Abe. H. : In : Lipid peroxides in Biology and Medicine(Yaki, K., ed.), New York : Academic Press, 1982 : 285-93.

=Abstract=

Effect of Kojinyumja(固眞飮子) on Galactosamine Induced hepatotoxicity in Rats.

Chul-Hwan Won · Sung-Hyun Jung · Seong-Woo Lim
Gil-Cho Shin · Sang-Hyup Yoon · Won-Chul Lee

The purpose of this study is to observe the protective effect of Kojinyumja on serum reaction and hepatic tissue in galactosamine treated rats.

In this study, the experimental rats divided four group(Normal group, Control group, Sample A group, and Sample B group) :

Under the same condition, normal and control group were administered water, sample A, B group were administered Kojinyumja for 8days. And then, both control group and Sample B group were injected to abdomen with galactosamine for 1day.

The rates of of glutathione, lipid peroxide, GOT, GPT, γ -GTP, ALP, LDH, and contents of bile acid level were measured. The results are as follows :

The glutathione rate significantly increased in sample group, the others (lipid peroxide, GOT, GPT, γ -GTP, ALP, LDH, bile acid) significantly decreased in sample group.

Key Word : Kojinyumja, galactosamine, hepatotoxicity.