

팔진탕이 비소 중독된 흰쥐의 간에 미치는 영향

임종필*, 서은실
우석대학교 약학대학

Effects of Paljin-Tang on the Liver of Arsenic-poisoned Rats

Jong Pil Lim* and Eun Sil Suh

College of Pharmacy, Woosuk University, Chonju 565-701, Korea

Abstract - Sodium arsenate and Paljin-Tang extract (PJT), a herbal restorative were treated p.o. 20 mg/kg and 500 mg/kg, respectively, and concurrently to rats, and examined the effects on the liver of rats. The values of protein, aniline hydroxylase (AH) and 2-thiobarbituric acid (TBA) were increased in arsenic-treated group. The values of glucose-6-phosphatase (G-6-P) and δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) of arsenic-treated group were decreased. But concurrent administration with PJT showed significant recovery from the toxicity of arsenic.

Key words - Paljin-Tang; liver; arsenic-poisoned; toxicity.

본 실험은 최근 환경오염물질중 사용이 급증되어 주목을 받고 있는 disodium arsenate(Na_2HAsO_4)를 氣血雙補劑인 八珍湯과 병용 투여하여 이들이 간에 미치는 영향을 소정의 동물실험을 통하여 유의성 있는 결과를 얻었으므로 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 - 八珍湯은 방약합편¹⁾ 처방에 준하여 인삼 3g, 백출 3g, 복령 3g, 자감초 2g, 숙지황 3g, 당귀 3g, 천궁 3g, 백작 3g을 1첩으로하여 10배의 물을 가하여 전탕후, 감압농축 동결건조하여 건조분말 엑스(이하 PJT라 함)로 만들어 사용시 정제수를 가하여 일정 농도로 만들어 투여하였다(수득율 10.2%).

시약 및 기기 - 비소로는 sodium arsenate (dibasic)(Sigma Co.)을 사용하였고 기타 시약은 시판 특급 이상의 시약을 사용하였다. 기기로는

Spectrophotometer(UV-240, Shimadzu), High speed centrifuge(KR-20000T, Kubota), Teflon-glass homogenizer(Fisher), ICAP (Jarrel-Ash, Atom Comp, series 800) 등을 사용하였다.

실험동물 - 흰쥐는 체중 150g 정도의 건강한 Sprague-Dawley strain(Male)을 사용하였다. 대조군과 As투여군, PJT 투여군 및 As+PJT 투여군으로 나누었으며, 실험군마다 10마리씩 사용하였다. 대조군에는 생리식염수 5.0 ml/kg씩을, As 투여군은 As로서 20 mg/kg씩을, PJT 투여군은 PJT로 500 mg/kg 씩을, As+PJT 투여군은 As 투여군과 같은 방법으로 투여하고 1시간 후 PJT 투여군과 동일한 방법으로 PJT를 4주간 매일 1회씩 경구 투여하였다.

간 microsome 분획의 분리 - 적출한 간을 잘게 썰어서 homogenizer를 사용하여 0.25 M sucrose 용액으로 homogenize 시킨다. 10~20%의 간장 homogenate을 Ciniti²⁾ 등의 방법에 따라 differ-

*교신저자 : Fax 02-3442-0220

Table I. Composition of incubation medium for aniline hydroxylase

Components	glucose-6-phosphate	50 μ mole
	NADP	1.5 μ mole
	nicotinamide	μ mole
	MgCl ₂	μ mole
	glucose-6-phosphate dehydrogenase	0.5 unit
	aniline	μ mole
Total volume	5 ml with	
	0.2 M Na-K phosphate buffer (pH 7.4)	
	1.5 ml and microsomal suspension 3 ml	

ential centrifugation을 한다. Homogenate를 600 g에서 5분간 원심분리하고 microsome을 완전히 침전시키기 위하여 8 mM CaCl₂ 용액을 post-mitochondrial supernatant에 가한 후 다시 2°C에서 27,000 g로 원심분리한다. 여기서 얻은 pellet을 동량의 0.15 M KCl을 가하여 세척한 후 재현탁시키고 다시 27,000 g에서 15분간 원심분리한 다음 그 pellet을 microsome 분획으로 사용한다.

Microsomal protein 함량 - Lowry³⁾의 방법으로 측정하였다.

Aniline hydroxylase의 활성 - 간 microsome 분획중 aniline hydroxylase의 활성 측정은 incubation media(Table I)를 제조한 다음 이 반응액을 37°C에서 20분간 반응시킨후 20% trichloroacetic acid 2 ml를 넣어 반응을 완료시키고 원심 분리하였다. 이 상정액 2.0 ml에 10% Na₂CO₃ 1.0 ml와 2% phenol 함유 0.2 N-NaOH 용액 2.0 ml를 가한 다음 37°C에서 30분간 정색시켜 얻어진 청색의 반응생성물을 λ_{max} 640 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다.⁴⁾

과산화 지질가 - 大石⁵⁾의 방법에 따라 2-thio-barbituric acid(TBA) value를 측정하였다.

Glucose-6-phosphatase 활성 - Fiske-Subbarow⁶⁾의 방법으로 측정하였다.

ALAD의 활성 - Lee⁷⁾의 방법에 따라 측정하였다.

통계처리 - 실험결과 평균치의 실험오차를 계산하였고, 대조군과의 차이를 student-t test를 사용하여 검정하였으며, p값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

Microsomal protein 함량 - 대조군에 비하여 비소 투여군에서 유의성있는 증가를 보였으며 팔진탕과의 병용 투여군의 경우는 유의성 있는 회복을 보였다(Table II). 일반적으로 microsome 분획 중의 protein의 함량은 약물대사 효소의 활성과 관계가 있으며 본 실험에서도 protein 함량 증가는 약물대사 효소의 활성증가와 비례하는 경향을 보여 주었다.

Aniline hydroxylase의 활성 - 비소 투여군 및 병용 투여군에서는 모두 3주까지 증가하는 경향을 보였으며 4주째에는 비소 투여군에서 34.81%의 높은 증가율을 나타내었으나 병용 투여군에서는 증가율이 6.22%로 낮아졌다(Fig. 1). 이러한 microsome효소의 활성 증가는 효소분자의 구조변경 또는 효소 단백질 합성 증가에 기인하는 것으로 알려져 있다.⁴⁾

과산화지질의 변화(TBA value) - 비소 투여시 첫 주째부터 급격히 상승하기 시작하여 4주째에는 129.35%까지 상승하였으나 팔진탕과의 병용 투여군은 4주째 상승율이 8.18%까지 떨어졌다(Fig. 1).

Table II. Effect of Paljin-Tang extract on tissue microsomal protein concentration in arsenic-poisoned rats

Groups	Weeks	Liver
Control	1	32.88±0.92
	2	33.20±1.21
	3	33.08±0.82
	4	32.85±0.05
PJT	1	33.25±1.02
	2	34.01±1.24
	3	33.92±0.99
	4	33.59±1.08
As	1	34.36±1.21
	2	36.21±1.39
	3	38.59±1.36*
	4	48.89±1.04***
As+PJT	1	34.65±0.59
	2	34.89±1.07
	3	36.72±1.38 [†]
	4	37.46±1.22 ^{##}

Unit: mg/g wet weight. Each value is the mean ±SE of 8~10 rats. Rats were administered p.o. daily as follows: Control: 5.0 ml/kg of saline, As: 20 mg/kg of Sodium arsenate solution, PJT: 500 mg/kg of Paljin-Tang ex. solution, As+PJT: 20 mg/kg of Sodium arsenate and Paljin-Tang ex. (500 mg/kg) solution. Significant difference between control and As groups (*: p<0.05, ***: p<0.001). Significant difference between As groups and As+PJT groups ([†]: p<0.05, ^{##}: p<0.01).

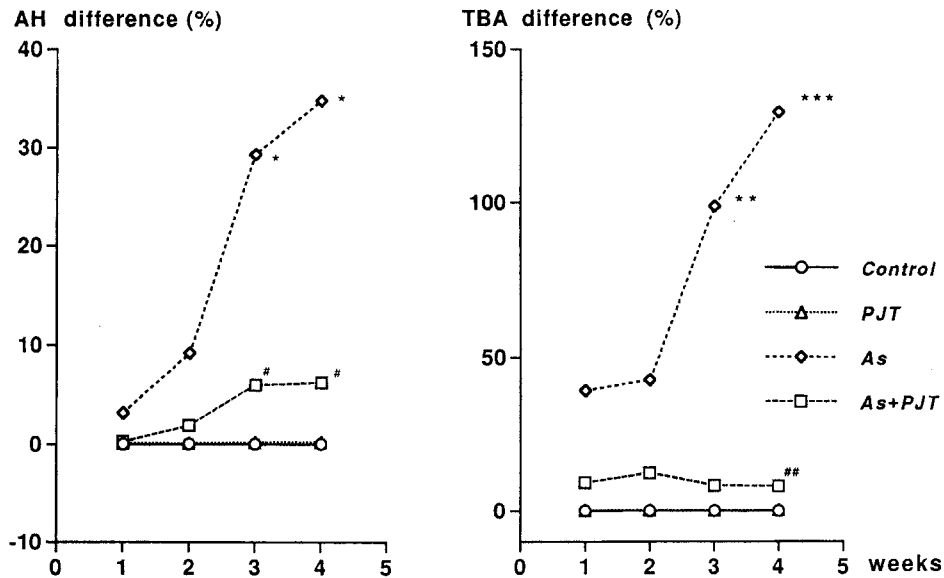


Fig. 1. Effect of Paljin-Tang extract on hepatic microsomal aniline hydroxylase (AH) and 2-thiobarbituric acid (TBA) in arsenic-poisoned rats. Difference (%): difference percent from control. Each value is the mean \pm SE of 8~10 rats. Rats were administered *p.o.* daily as follows: Control: 5.0 ml/kg of saline, As: 20 mg/kg of sodium arsenate solution, PJT: 500 mg/kg of Paljin-Tang ex. solution, As+PJT: 20 mg/kg of sodium arsenate and Paljin-Tang ex. (500 mg/kg) solution. Significant difference between control and As groups (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$). Significant difference between As groups and As+PJT groups (#: $p < 0.01$, ##: $p < 0.01$).

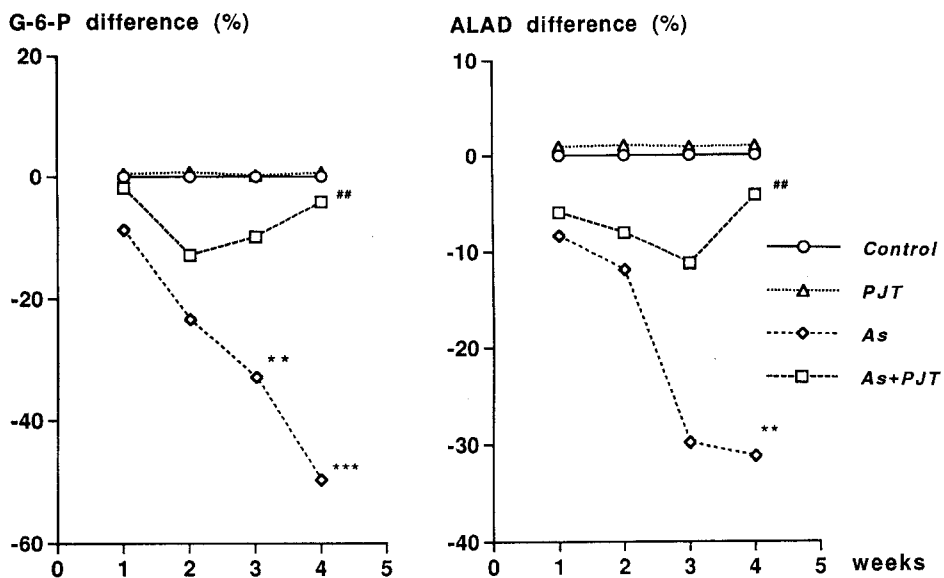


Fig. 2. Effect of Paljin-Tang extract on hepatic microsomal glucose-6-phosphate (G-6-P) and aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) in arsenic-poisoned rats. Difference (%): difference percent from control. Each value is the mean \pm SE of 8~10 rats. Rats were administered *p.o.* daily as follows: Control: 5.0 ml/kg of saline, As: 20 mg/kg of sodium arsenate solution, PJT: 500 mg/kg of Paljin-Tang ex. solution, As+PJT: 20 mg/kg of sodium arsenate and Paljin-Tang ex. (500 mg/kg) solution. Significant difference between control and As groups (**: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$). Significant difference between As groups and As+PJT groups (##: $p < 0.01$).

과산화지질량은 CCl_4 , 노화, 간 손상, 공해, 동맥 경화 등에 의해 증가한다. Rana 등⁸⁾은 비소투여에 의한 과산화지질의 상승을 보고했으며 Yanez 등⁹⁾은 비소 투여 시 과산화지질이 대조군에 비해 약 2.5배 가량 증가하고 Cd와 함께 투여했을 경우에는 3배 가량 증가한다고 했다.

Glucose-6-phosphatase 활성-대조군에 비하여 비소 투여군에서 활성의 현저한 저하를 볼 수 있었다. 그러나 팔진탕의 병용 투여로 유의성 있는 회복 효과를 나타냈다(Fig. 2). Wapnir¹⁰⁾의 연구에서는 납 투여시 glucose 농도가 소장에서 증가했으며 신장에서는 감소한 것으로 나타났다.

ALAD 변화-비소 투여군에서 시간 경과에 따라 급격히 저하하여 저하율이 4주째에는 대조군에 비하여 31.20%로 낮아져 heme 생합성 효과가 저하되었을 것으로 사료된다. 그러나 팔진탕과의 병용 투여군에서는 3주째 11.24%로 낮아졌다가 4주째에는 4.28%로 회복효과를 나타냈다(Fig. 2). ALAD의 활성이 저하되면 혈액 및 뇨중의 ALA 농도가 상승하며 장기간 계속될 경우 heme 합성저해에 의한 빈혈을 초래하게 됨은 물론이고 mitochondria 및 microsomal cytochrome과 같은 hemoprotein의 생합성이 영향을 받는다.¹¹⁾ Trevisan 등¹²⁾ 및 Meredith 등¹³⁾은 납 투여시 ALAD가 각각 34% 및 70%로 저하됨을 보고하였고 Goering 등¹⁴⁾은 GaAs를 투여하여 신장에서 68%, 간장에서 79%까지 저하되었다고 하였으며 Fowler 등¹⁵⁾은 납 및 비소를 병용 투여시 ALA가 크게 증가하였음을 보고했다. Fowler의 실험에서 병용 투여군의 ALAD 활성이 조금만 저하되어도 ALA가 크게 증가한 것으로 보아 ALAD 활성이 heme 생합성에 큰 영향을 미치는 것으로 사료된다.

결 론

중금속 중독을 일으키는 비소와 補益氣血劑로 사용되는 八珍湯을 흰쥐에게 비소와 당엑스로서 각각 20 mg/kg 및 500 mg/kg씩 단독 투여군과 또한 그것들의 병용 투여군에 4주간 경구 투여하여 혈액에 미치는 영향을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

비소 투여로 나타나는 microsome 대사 효소의 독성적 변화는 protein, aniline hydroxylase와

과산화지질의 경우는 비소 투여군에서 높은 증가율을 나타냈고, G-6-P, ALAD의 경우 현저한 저하를 나타냈으나 八珍湯과의 병용 투여로 유의성 있는 회복효과를 보였다.

사 사

본 연구는 우석대학교 학술연구 조성비의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 황도연 (1984) 증맥방약합편, 155. 남산당, 서울.
2. Cinti, D. L., Moldeus P. and Schenkman J. B. (1972) Kinetic parameters of drug-metabolizing enzymes in Ca^{2+} -sedimented microsomes from rat liver. *Biochemical Pharmacology* 21: 3249-3256.
3. Lowry, O. H., Lewis, R. H. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265.
4. Hong, S. U. and Kim, H. S. (1991) Toxic effect of S-bioallethrin in rats. *Environmental Pharmacology of Sungkyunkwan Univ. Graduate school.*
5. 大石誠子 (1978) 과산화지질 측정법. *최신의학* 33: 660-663.
6. Fiske, C. H. and Subbarow, Y. (1925) The colorimetric determination of phosphorus. *The Journal of Biological Chemistry* 66: 375-400.
7. Lee, Y. W. and Chung, K. C. (1979) Isolation and Purification of multiple molecular forms of δ -aminolevulinatase dehydratase from ICR inbred strain of mice. *Korean Biochem. J.* 12: 177-192.
8. Rana, S. V. S. and Ajay, K. (1984) Significance of lipid peroxidation in liver injury after heavy metal poisoning in rat. *Current Science* 53: 933-934.
9. Yanez, L., Carrizales, L. and Zanatta, M. T. (1991) Arsenic-cadmium interaction in rats.- Toxic effects in the heart and tissue metal shifts-. *Toxicology* 67: 227-234.
10. Wapnir, R. A., Moak, S. A., Lifshitz, F. and Teichberg, S. (1979) Alterations of intestinal and renal functions in rats after intraperitoneal injections of lead acetate. *J. Lab. Clin. Med.* 94: 144-151.
11. Knowles, F. C. and Benson, A. A. (1983) The

- biochemistry of arsenic. *TIBS*, May: 178-180.
12. Trevisan, A., Gori, G. P., Zangirolami, A., Benevento, C., Rosa, A. and Chiesura, P. (1980) Site of action of metals on the aminolevulinic acid dehydratase of human erythrocytes. *Enzyme* 25: 33-36.
 13. Meredith, P. A., Moore, M. R. and Goldberg, A. X. (1977) Effects of aluminium, lead and zinc on δ -aminolevulinic acid dehydratase. *Enzyme* 22: 22-27.
 14. Goering, P. L., Maronpot, R. R. and Fowler, B. A. (1988) Effect of intratracheal gallium arsenide administration on δ -aminolevulinic acid dehydratase in rats. -Relationship to urinary excretion of aminolevulinic acid-. *Toxicology and Applied Pharmacology* 92: 179-193.
 15. Fowler, B. A. and Mahaffey, K. R. (1978) Interactions among lead, cadmium and arsenic in relation to porphyrin excretion patterns. *Environmental Health Perspectives* 25: 87-90.

(1998년 10월 10일 접수)