

高Cholesterol 식이 생쥐에 미치는 桂枝茯苓丸의 抗酸化效果

李承憲 · 朴宣東 · 朴元煥¹⁾

東國大學校 韓醫學科 方劑學教室, ¹⁾ 診斷學教室

【초록】 본 연구는 桂枝茯苓丸이 고 Cholesterol 식이 생쥐의 간과 신장에 미치는 항산화 효과를 조사하였다. 실험동물은 3개의 군 (정상군 · 대조군 · 실험군)으로 나누었으며 정상군은 마우스용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하고, 대조군은 Cholesterol 고형사료(cholesterol 5g/kg)를 제한 없이 8주간 공급하면서 7, 8주에 각각 처치하였다. 실험군은 물과 Cholesterol 고형사료를 제한 없이 6주간 공급한 후 桂枝茯苓丸을 2주간 음용(20cc/day)시키면서 1,2주에 각각 처치시켰다. 대조군은 lipid peroxidation(LPO) 함량은 증가하였고 glutathion(GSH) 함량, catalase 와 superoxidation dismutase(SOD)의 활성은 감소하였음을 관찰 할 수 있었다. 실험군은 대조군에 비해 lipid peroxidation(LPO) 함량은 유의성있게 감소하였고 glutathion(GSH) 함량, catalase 와 superoxidation dismutase(SOD)의 활성은 유의성 있게 증가하였음을 확인 할 수 있었다. 이 결과들로 보아 桂枝茯苓丸이 지질의 과산화물 억제하고 glutathion(GSH)과 같은 체내 항산화 물질을 증가시키는 효과가 있다고 사료된다.

중심단말 : 항산화효과, Cholesterol, 桂枝茯苓丸, 活血化瘀

I. 緒論

桂枝茯苓丸은 漢代 張仲景의 「金匱要略」³²⁾에 처음으로 收載된 以後 많은 醫家들에 의해 應用되어 온 處方으로 婦人에 있어 오래된 癥病을 治療한다고 하였고, 東醫寶鑑에서는 奪命丹(丸)^{8,24,26)}, 催生湯^{13,15)}등으로도 불린다.

本方은 桂枝 · 茯苓 · 牡丹皮 · 桃仁 · 芍藥으로 構成되며 分量은 各 等分으로 同一하다. 桂枝는 辛溫한 性味로 發汗解表 · 溫經通脈하고, 茯苓은 淡平하여 利尿滲濕 · 健脾補氣 ·

補腎守神하고, 牡丹皮는 辛苦 寒한 性味로 清熱涼血 · 活血散瘀하고, 桃仁은 苦辛平한 性味로 活血化瘀 · 通便排膿하고, 芍藥은 苦辛酸涼한 性味로 滋養補血 · 止癢止痛하는 效能으로 이들 藥物의 조합가 특히 瘀血로 발 현되는 病變에 有效한 것으로 알려져 왔다.^{1, 5,6,23,27)}

臨床적으로는 月經不順 · 갱년기장애 · 자궁 내막염 등의 婦人科疾患, 紫斑症 · 皮膚炎 · 打撲症 · 血栓症 등의 皮膚疾患, 麥粒腫 · 眼底出血 · 角膜炎 등의 眼疾患, 盜病 · 癲病 · 自律神經失調症 등의 神經性疾患, 그리고 動脈硬化

症·高血壓症·甲狀腺腫·靜脈瘤 등의 瘀血症에 널리 이용되고 있다.^{38,47,48,55,57,58,62)}

桂枝茯苓丸의 실험적 연구로 이⁴³⁾와 한⁴⁶⁾이 dextran 瘀血 病態와 高粘度血症에 미치는 영향을 보고하였고, 문⁴⁰⁾은 endotoxin으로誘發된 血栓症에 미치는 影響을, 하⁴⁵⁾는 鎮痛·鎮痙·消炎作用에 관한 보고를 하였고, 한편 최⁴⁴⁾는 子宮筋諸運動 및 血液像에 미치는 영향에서 化痰·行氣·活血·消癥의 效能을 보고하였으며, 신⁴¹⁾은 실험적 肝瘀血症에 미치는 영향에 유의성이 있음을 보고하였다.

桂枝茯苓丸의 活血化癥효능은 free radical의 생성억제와 연관된다고 하였는데, 생체 내에서 이러한 radical들을 효과적으로 제어하기 위한 항산화 작용은 superoxide dismutase(SOD)·catalase·glutathione등이 중요한 역할을 담당하고 있다.⁶³⁾ 특히 인간의 질병에 있어 SOD 치료법의 가능성은 모든 생화학 고분자들이 Oxygen radical의 해로운 활동을 막기 위해서 도움이 될 수 있기 때문에 점차로 커져왔다.

이에 본 저자는 活血化癥 효능을 가진 桂枝茯苓丸이 高cholesterol 식이 생쥐의 간과 신장에서 항산화 효과를 나타내는지를 조사한 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

재료는 東醫寶鑑⁸⁾에 준하였으며 한 첩의 내용과 분량은 다음과 같다.

2) 動物

실험동물은 일정한 조건하에서 사육한 생후 5~7주된 체중 30g 내외의 건강한 Balb C mouse로 본교의 사육실에서 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 20℃ 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light dark cycle

이 12시간 단위로 조절되게 한 후, 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

桂枝茯苓丸(Geagibokrounghwan)

藥名	學名	各量
桂枝	<i>Cimamomum cassia</i>	12.0g
茯苓	<i>Poria cocos</i>	12.0g
牡丹皮	<i>Paeonia suffruticose</i>	12.0g
芍藥	<i>Paeonia lactiflora</i>	12.0g
桃仁	<i>Prunus persica</i>	12.0g
총량		60.0g

3) 試藥

본 실험에 사용한 시약은 bovine serum albumine, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA), sodium dodecyl sulfate(SDS), thiobarbituric acid(TBA), sulfosalicylic acid, potassium phosphate, Tris, Malondialdehyde tetrabutylammonium salt, pyridine등은 SIGMA사에서 구입하였으며, Hydrogen peroxide 및 n-butanol, ethanol, Hydrogen peroxide과 기타 시약은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다.

2. 方法

1) 검액의 조제

桂枝茯苓丸 2貼 (120.0 g) 분량에 3배량의 증류수를 가한 다음 3시간 동안 1회 중탕하여 여과한 후 桂枝茯苓丸 추출물 850cc를 얻었다.

2) 동물의 처치

실험동물은 3개의 군 (정상군·대조군·실험군)으로 나누었다. 정상군은 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급하였으며, 대조군은 고형사료 1kg당 cholesterol 5g을 olive

oil 200ml에 녹여 고형사료와 골고루 섞어 1일간 방치한 후 물과 cholesterol 고형사료를 제한 없이 8주간 공급하면서 7, 8주에 각각 처치하였다. 실험군은 물과 Cholesterol 고형사료를 제한 없이 6주간 공급한 후 桂枝茯苓丸을 1일 1마리당 20cc씩 2주간 음용시키면서 1, 2주에 각각 처치시켰다.

3) 효소원의 조제

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복하여 생리 식염수로 관류시킨 간과 신장은 조직이 손상되지 않도록 주의하여 혈액이 충분히 제거될 때까지 생리 식염수에 잘 씻어내고 whatman 여과지로 식염수를 제거한 후 -70°C 에 동결 보존하여 사용하였다.

효소 활성도 측정을 위해 전체 조직의 4배 용량의 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 4분간 균질화하였다. 이 균질액을 lipid peroxide · glutathion · catalase 및 superoxide dismutase의 활성 측정 시료로 사용하였다.

상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는 한 $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 에서 실시하였다.

4) Lipid peroxide (LPO)함량측정

조직내 LPO함량 측정은 Ohkawa⁷⁵⁾ 등의 방법에 따랐다. 조직 마쇄 균질액을 $1.000\times\text{g}$ 에서 원심분리한 후 상층액을 취해 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95°C 에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol:Pyridine(15:1) 혼액으로 이행시켜 파장 532nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 생성된 시료의 MDA농도는 free MDA로 표준선을 구하여 계산하였으며 MDA함량은 조직 g당 nmoles로 나타내었다.

5) Glutathion (GSH)함량측정

조직내 GSH 함량측정은 Ellman⁷³⁾ 등의 방법에 따랐다. 조직 균질액을 $1,000\times\text{g}$ 에서 원심분리 한후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 3000rpm에서 10분간 원심분리한후 상층액을 취하여 1mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치 한후 412nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) Catalase 활성측정

조직내 Catalase 활성도는 Aebi⁷²⁾의 방법에 따라 측정하였다. 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10mM H_2O_2 용액을 가하여 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 10mM H_2O_2 용액 대신에 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)을 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 $1\mu\text{M}$ 의 H_2O_2 를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

7) Superoxide dismutase (SOD)활성 측정

조직내 SOD활성도는 McCord와 Fridovich⁷⁴⁾의 방법에 의해 측정하였다. 0.6mM EDTA를 함유한 300mM potassium phosphate buffer (pH 7.8), 0.3mM cytochrome c, 0.3mM xanthine, 10mM KCN을 함유한 증류수를 넣고 잘 혼합 한 뒤 효소원을 넣고 마지막으로 xanthine oxidase를 첨가하여 반응을 개시하였다. SOD 1 unit의 양은 반응액 3ml, 25°C , pH 7.8의 조건하에서 cytochrome c의 양을 50% 억제하는 양으로 측정하였다.

8) 통계처리

실험결과는 평균과 표준 편차로 표현하고 유의성 검증은 Sigma Plot(Window용 version 3.0)을 이용하여 unpaired t-test를 실시하였다.

Ⅲ. 實驗結果

1. Lipid peroxide (LPO) 함량변화

Cholesterol 식이를 한 실험동물에 桂枝茯苓丸 추출물을 음용 시켰을 때 간에서의 정상군의 과산화지질 함량은 10.67 ± 1.37 MDA nmole/g of tissue 인데 비해 대조군은 31.35 ± 2.33 MDA nmole/g of tissue, 30.70 ± 1.52 MDA nmole/g of tissue 으로 약 3배정도 증가하였으나 실험군A는 25.13 ± 3.30 MDA nmole/g of tissue, 실험군B는 24.24 ± 2.43 MDA nmole/g of tissue 으로 대조군에 비해 감소하였다. (Table I, Fig. 1)

신장에서의 정상군의 과산화 지질 함량은 7.51 ± 1.37 MDA nmole/g of tissue

인데 비해 대조군은 10.49 ± 1.10 MDA nmole/g of tissue, 11.60 ± 1.00 MDA nmole/g of tissue 으로 증가하였으나 실험군A는 8.49 ± 0.47 MDA nmole/g of tissue, 실험군B는 7.74 ± 0.36 MDA nmole/g of tissue 으로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 감소하였다. (Table I, Fig. 1)

2. Glutathion (GSH) 함량변화

Cholesterol 식이를 한 실험동물에 桂枝茯苓丸 추출물을 음용 시켰을 때 간에서의 정상군의 Glutathion 함량은 4.29 ± 0.90 nmole/g of tissue 인데 비해 대조군은 2.27 ± 0.32 nmole/g of tissue, 2.20 ± 0.47 nmole/g of tissue 으로 감소하였으나 실험군A는 3.14 ± 0.30 nmole/g of tissue, 실험군B는 3.42 ± 0.45 nmole/g of tissue 으로 대조군

Table I. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal lipid peroxide in cholesterol-treated rats.

Group	I	II
	MDA nmole / g of tissue	
Normal	10.67 ± 1.37	7.51 ± 1.37
Control A	31.35 ± 2.33	10.49 ± 1.10
Control B	30.70 ± 1.52	11.60 ± 1.00
Sample A	25.13 ± 3.30	8.50 ± 0.47 **
Sample B	24.24 ± 2.43	7.74 ± 0.36 **

Normal group was fed basal diet and water.

Control A group was fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 7 weeks and B group for 8 weeks.

Sample A group was fed the Geagibokrounghwan extract (10ml/kg) for 1 week after fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks, which B group for 2 weeks.

I: The group is hepatic lipid peroxide.

II: The group is renal lipid peroxide.

** : $P < 0.05$ as compared with control group

에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다. (Table II, Fig. 2)

신장에서의 정상군의 Glutathion 함량은 3.71 ± 0.78 nmole/g of tissue 인데 비해 대조군은 2.75 ± 0.43 nmole/g of tissue,

2.27 ± 0.57 nmole/g of tissue 으로 감소하였으나 실험군A는 3.08 ± 0.13 nmole/g of tissue . 실험군B는 3.53 ± 0.63 nmole/g of tissue 으로 대조군에 비해 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다. (Table II, Fig. 2)

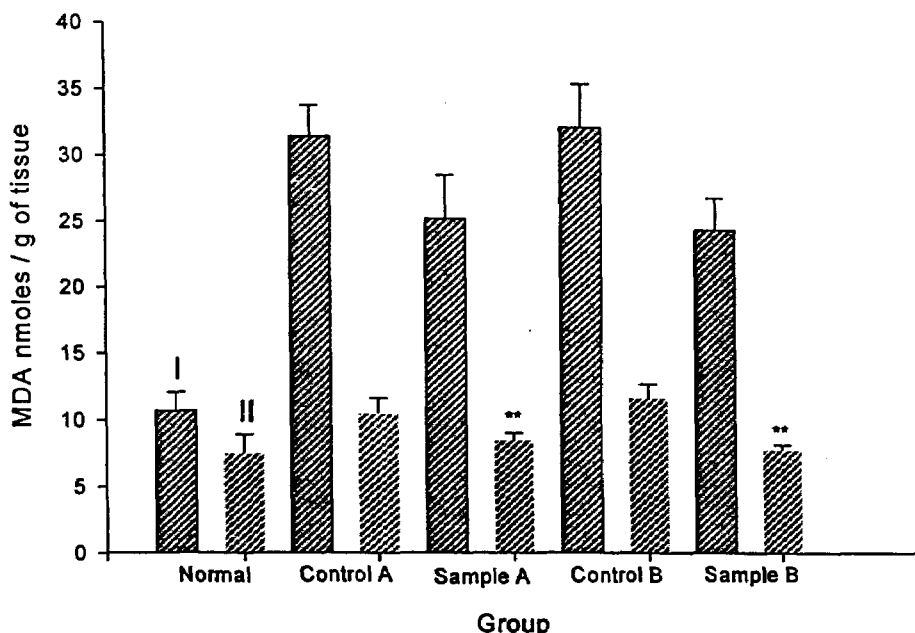


Fig. 1. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal lipid peroxide in cholesterol-treated rats.

Table II. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal glutathion in cholesterol-treated rats.

Group	nmole / g of tissue	
	I	II
Normal	4.29 ± 0.90	3.71 ± 0.78
Control A	2.27 ± 0.32	2.75 ± 0.43
Control B	2.20 ± 0.47	2.27 ± 0.57
Sample A	3.14 ± 0.30 **	3.08 ± 0.13 **
Sample B	3.42 ± 0.45 **	3.53 ± 0.63 **

Normal group was fed basal diet and water.

Control A group was fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 7 weeks and B group for 8 weeks.

Sample A group was fed the Geagibokrounghwan extract (10ml/kg) for 1 week after fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks, which B group for 2 weeks.

I : The group is hepatic catalase.

II : The group is renal catalase.

** : P <0.05 as compared with control group.

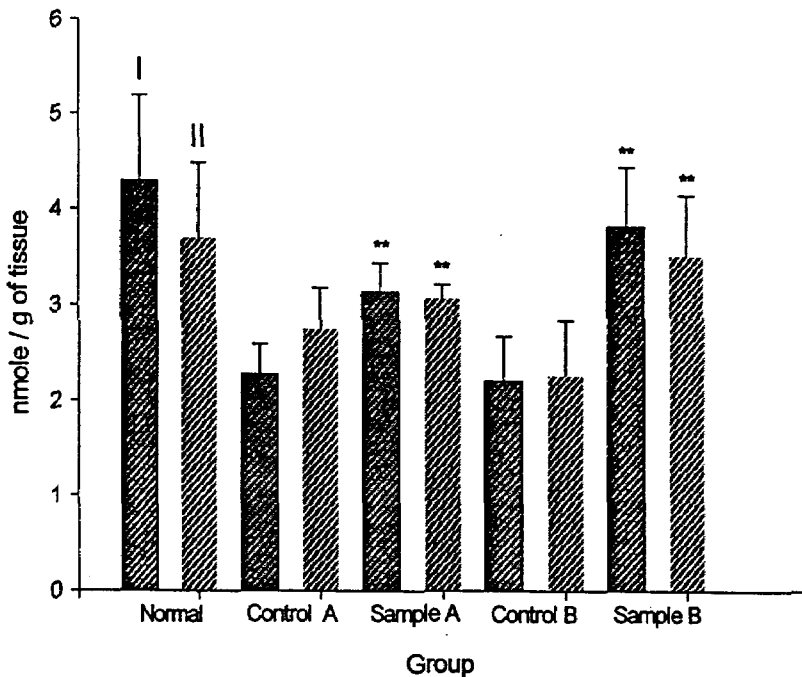


Fig. 2. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal glutathion in cholesterol-treated rats.

3. Catalase 활성변화

Cholesterol 식이를 한 실험동물에 桂枝茯苓丸 추출물을 음용 시켰을 때 간에서의 정상군의 Catalase 함량은 9.94 ± 1.42 units/mg of protein 인데 비해 대조군은 8.40

± 0.56 unit/mg of protein, 8.31 ± 0.83 unit/mg of protein 으로 감소하였으나 실험군A는 11.52 ± 0.88 units/mg of protein, 실험군B는 11.67 ± 0.88 units/mg of protein 으로 대조군에 비해 증가하

Table III. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal catalase in cholesterol-treated rats.

Group	I	II
	units / mg of protein	
Normal	9.94 ± 1.42	3.81 ± 1.00
Control A	8.40 ± 0.56	2.95 ± 0.51
Control B	8.31 ± 0.83	2.74 ± 0.40
Sample A	11.52 ± 0.88	3.21 ± 0.62 **
Sample B	11.67 ± 0.88	3.46 ± 0.59 **

Normal group was fed basal diet and water.

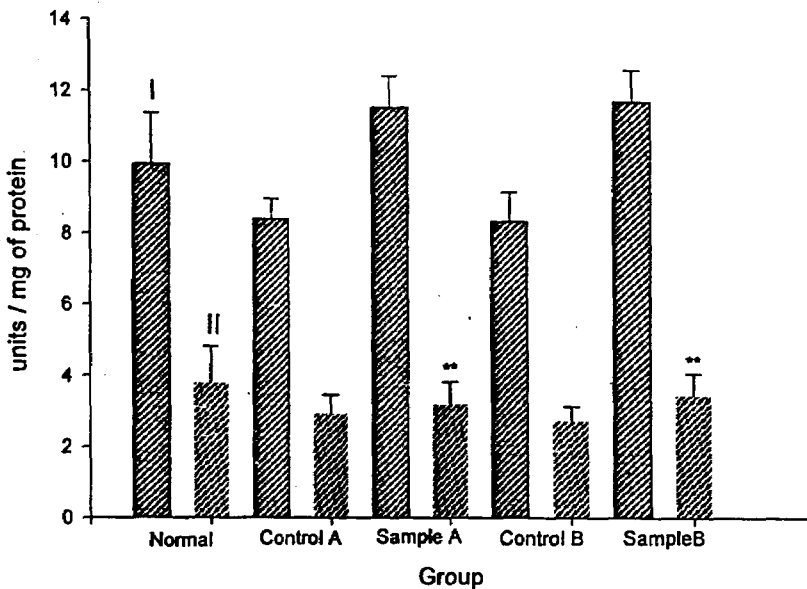
Control A group was fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 7 weeks and B group for 8 weeks.

Sample A group was fed the Geagibokrounghwan extract (10ml/kg) for 1 week after fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks, which B group for 2 weeks.

I : The group is hepatic catalase.

II : The group is renal catalase.

** : P < 0.05 as compared with control group.



3. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal catalase in cholesterol-treated rats.

였다.(Table III, Fig. 3)

신장에서서의 정상군의 Catalase 함량은 3.81 ± 1.00 units/mg of protein 인데 비해 대조군은 2.95 ± 0.51 units/mg of protein, 2.74 ± 0.40 unit/mg of protein 으로 감소하였으나 실험군A는 3.21 ± 0.62 units/mg of protein, 실험군B는 3.46 ± 0.59 units/mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성(p < 0.05)있게 증가하였다.

(Table III, Fig. 3)

4. Superoxide dismutase (SOD)활성 변화

Cholesterol 식이를 한 실험동물에 桂枝茯苓丸 추출물을 음용 시켰을 때 간에서의 정상군의 Superoxide dismutase 함량은 23.14 ± 2.87 units/mg of protein 인데 비해 대조군은 14.79 ± 0.96 unit/mg of protein, 13.72 ± 0.55 units/mg of protein 으로 감

소하였으나 실험군A는 18.67 ± 0.71 units/mg of protein, 실험군B는 20.82 ± 0.94 units/mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성(p < 0.05)있게 증가하였다.

(Table IV, Fig. 4)

신장에서서의 정상군의 Superoxide dismutase 함량은 12.79 ± 0.53 units / mg of protein 인데 비해 대조군은 10.14 ± 0.78 units / mg of protein, 8.60 ± 0.40 units / mg of protein 으로 감소하였으나 실험군A는 11.46 ± 0.99 units / mg of protein, 실험군B는 12.12 ± 0.25 units / mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성(p < 0.05)있게 증가하였다.(Table IV, Fig. 4)

IV. 考 察

桂枝茯苓丸은 張34)의 「金匱要略」에 처음으로 收錄된 이래로 積塊·小兒疝塊·痛

Table IV. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal superoxide dismutase in cholesterol-treated rats.

Group	I	II
	unit / mg of protein	
Normal	23.14 ± 2.87	12.79 ± 0.53
Control A	14.79 ± 0.96	10.14 ± 0.78
Control B	13.72 ± 0.55	8.60 ± 0.40
Sample A	18.67 ± 0.71 **	11.46 ± 0.99 **
Sample B	20.82 ± 0.94 **	12.12 ± 0.25 **

Normal group was fed basal diet and water.

Control A group was fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 7 weeks and B group for 8 weeks.

Sample A group was fed the Geagibokrounghwan extract (10ml/kg) for 1 week after fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks, which B group for 2 weeks.

I : The group is hepatic catalase.

II : The group is renal catalase.

** : P < 0.05 as compared with control group.

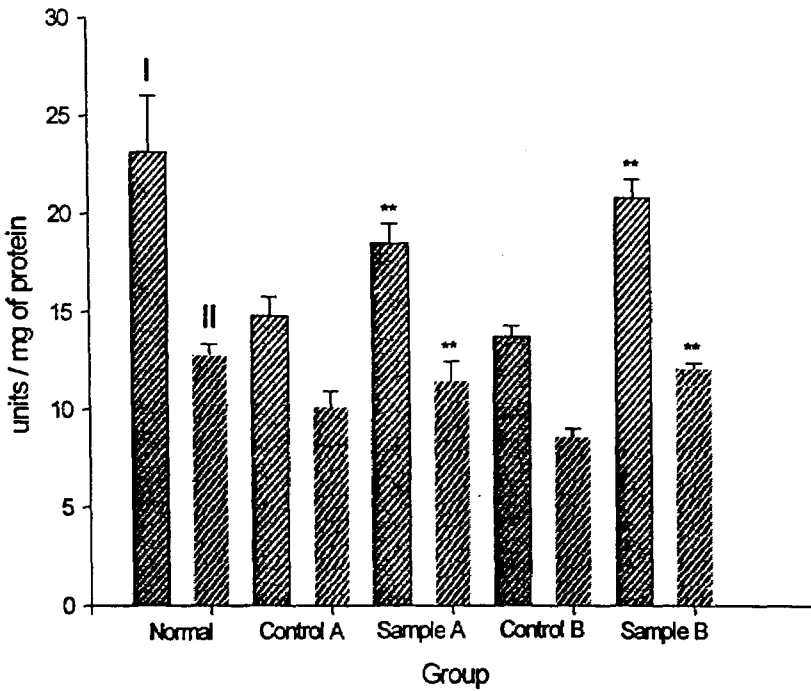


Fig. 4. Effect of the Geagibokrounghwan extract on the level of hepatic and renal superoxide dismutase in cholesterol-treated rats.

不移處·臥即腹墜·腎瀉·久瀉를 치료한다고 하였는데, 頭面四肢·周身血管의 血瘀之症에는 通竅活血湯을 胸中血府의 血瘀之症에는 血府逐瘀湯을 肚腹의 血瘀之症에는 桂枝茯苓丸을 使用한다고 하여 血瘀治療의 代表的 方劑의 하나임을 강조하였고, 時²¹⁾는 行血逐瘀藥으로 構成되어 있어서 下焦氣滯瘀停疾患에 有效하다고 하였다.

桂枝茯苓丸의 構成藥物에 대한 效能을 살펴보면, 桂枝는 氣溫 味甘辛하며 心·肺·膀胱經에 入하여 發汗解表·溫經通脈·通陽化

氣^{6,7,11,17,18)}·溫中利肝肺氣^{3,10)}·通肝陽¹⁴⁾·舒筋^{2,13)}·通瘀活血¹⁹⁾·散下焦蓄血⁷⁾함으로써 經閉癥瘕·骨節攣痛·風痺¹⁰⁾·心痛脇痛^{4,7)}·奔豚驚悸¹⁰⁾ 등에 應用되고, 桃仁은 氣平, 味苦甘하며, 心·肝·大腸經에 入하여 活血·破血·祛瘀^{6,7,11,18,50)}·泄血分滯 緩肝氣 而生新血^{4,6)}·潤燥滑腸^{2,10,22)} 하여 主瘀血血閉 癥瘕·消心下堅·除卒暴擊血·通脈·止心腹痛^{3,7,8)}·通大腸血秘^{4,6,7,10)}·血暈·血痞血積^{3,6)}·風痺 등에 活用되며, 牡丹皮는 氣涼 味辛苦하며 心·肝·腎經에 入하여 清熱·活血散

瘀^{6,7,11,18,50} · 瀉血伏火 · 和血涼血而生血通經脈^{4,6,7} · 安五臟^{3,7} · 舒養肝氣²⁰ 함으로써 驚癇邪氣 · 除癥堅瘀血留舍腸胃 · 除時氣頭痛 · 風癱癩疾^{3,7} · 經閉癥疝^{10,22} · 除風痺⁷ · 療癰瘡^{2,3,4,6,7} · 吐衄血^{4,6,7,10,22} 등에 應用되고, 茯苓은 氣平 味甘하며 心 · 肺 · 脾 · 胃 · 腎經에 入하여 利水滲濕 · 健脾和中 · 寧心安神^{6,7,11,18,50} · 調理理衛⁴ · 調臟氣^{3,7} 함으로써 心下結痛^{3,4,7,20} · 心腹脹滿 · 腎積奔豚⁷ · 小便不利 · 水腫脹滿¹⁰ 등에 活用되며, 芍藥은 氣微寒 味苦酸 하며 肝 · 脾經에 入하여 滋肝陰⁴ · 瀉肝^{7,8} · 通順血脈緩中³ 함으로써 主邪氣腹痛 除血痺 破堅積寒 熱疝瘕 · 止痛 · 利小便 · 益氣^{3,20} · 婦人血閉不通 · 驚狂頭痛 · 目赤明目 · 脇下痛⁷ · 散惡血逐賊血³ 등에 應用된다고 하였다.

그러므로 桂枝茯苓丸을 構成하는 藥物들은 全體의 藥性이 平溫, 無毒하고 味는 苦辛 多甘少하며 歸經은 心, 肝, 腎 등의 順으로 頻도가 높으며 活血祛瘀, 理氣之痛, 通經破血, 舒肝消積의 效가 있다^{6,7,9,11}. 이와 같은 效能을 가진 藥物들로 構成된 桂枝茯苓丸은 氣滯로 인한 瘀血에 對하여 活血 祛瘀 理氣之痛시키는 治療效果가 있음을 알 수 있다.

桂枝茯苓丸은 婦人의 오래된 癥病에 主로 사용된 方劑이나³³ 近來에 와서 男女를 不問하고 瘀血 및 그로 因해 誘發된 癥瘕 등의 病證을 治療하기 위한 方劑로 活用되었고, 王²⁸은 桂枝茯苓丸의 藥性이 和平하고 寒溫이 相宜하여 祛瘀하되 耗血하지 않고, 攻堅하되 正氣를 傷하지 않아서 活血化瘀 消癥散結하는데 效果가 좋은 方劑가 된다고 하였으며, 徐³¹는 桂枝와 芍藥의 陰陽배합과 茯苓 牡丹皮의 氣血배합으로 寒熱대사를 조절하며 면역기능을 항진시키고, 桃仁으로서 병적 요인을 제거한다고 하였으며, 癥의 초기는 寒한데 桂枝의 化氣작용이 本寒을 제거하고, 癥病의 발전기에는 濕熱이 수반되어 窠囊이 되는데 茯苓이 滲濕氣하고 牡丹皮로서 清血熱하며, 芍藥의 斂肝血과 扶脾로서 統血시킨

다고 하였다. 따라서 一般的으로 腹部에 瘀血이 있거나 또는 그로 因하여 發生된 各種 症候에 應用할 수 있다고 하였다.

臨床의으로는 緩消癥塊 活血化瘀하는 效能이 있는 軟堅逐瘀法의 代表的인 方劑²⁵로 癥閉, 帶下, 滑胎, 皮下出血, 고지혈증, 子宮出血, 婦人의 各種출혈, 子宮근종, 난소기능부전, 子宮내막염, 痔疾, 전립선비대증, 打撲傷, 高血壓, 瘀血性 婦人의 갱년기장애, 皮膚疾患 및 血栓證 등의 질환에 널리 응용되고 있으며^{16,30,38,47,48,55,57,58,62} 실험적 연구를 통하여 항혈소판응집효과, 혈액점도의 개선작용, 抗腫양효과 및 손상된 肝疾患에 有效함이 立證된 바 있다.^{38,39,41,42}

이외에도 小蓐⁶¹과 祝⁵⁶은 桂枝茯苓丸加味方이 만성신부전 환자에서 유의성있는 결과를 얻었다는 임상보고를 하였고, 東⁶⁰은 atrophy성 피부염의 顔面紅潮에 桂枝茯苓丸의 效를 제시하면서 미소순환조절작용이 있고 특히 芍藥과 桂枝는 말초혈관확장작용이, 桃仁, 牡丹皮, 芍藥, 桂枝는 혈액응고 억제작용이 있다고 하였다. 또한 李⁵⁹은 子宮內 낭종상의 腫瘤에 효과적이라고 하였다. 한편 劉⁵²는 桂枝茯苓丸은 活血化瘀 調和氣血 平衡陰陽하는 方劑로서 瘀血內阻 損傷衝任 氣血運行失常으로 인한 諸病에 活用된다고 하였다.

즉, 痰 혹은 瘀血은 飲食不節이나 肥甘한 음식을 많이 섭취하여 水濕이 체내에 停聚하므로서 生成되는데 서의학의 高지방 高cholesterol성 食物로 발생되는 高脂血症과 유사하며 高脂血症은 동맥경화를 야기할 뿐만 아니라 眩暈 · 中風 · 冠心病 · 心筋梗塞등이 나타난다고 하여 體肥多痰과 高脂血症이 密接한 關係가 있음을 설명하였다.³⁵

산소를 이용하는 생물체의 정상적인 대사과정에서 지속적으로 superoxide anion(O₂⁻), hydroxyl radical(OH⁻)과 hydrogen peroxide(H₂O₂)등 반응성이 큰 oxygen species가 생성된다는 증거들이 제시되었고⁶⁴, 또한

radical에 의해 막성분인 인지질의 불포화지방산으로 생성된 불안정한 지질 과산화물들이 분해에 의해 이차적인 radical들을 생성할 수 있다.⁶⁵⁾ 生體內에는 이러한 radical들을 효과적으로 제거하기 위한 여러 효소 및 항산화제들이 존재한다. 그 효소로는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione 등이 있는데 superoxide dismutase(SOD)는 우선 O₂-를 H₂O₂로 변환시키며 peroxisome의 catalase가 H₂O₂를 무해한 물과 산소로 분해한다.⁶³⁾

따라서, 著者는 cholesterol과 활성산소류를 관련시켜 한방에서 실제로 사용되는 桂枝茯苓丸 추출물을 투여하여 cholesterol을 투여한 모델동물에서 활성산소류의 생성 및 분해 과정에 관여하는 효소들의 활성변화를 비교 관찰하고자 본 실험을 試圖하였다.

생리조직중 과산화지질의 함량은 생화학적 조직 손상의 척도로 널리 이용되며 조직의 산화적 손상에 의해 야기되는 병리현상의 척도로도 활용되어진다.⁶⁶⁾ 과산화지질은 세포막의 지질성분이 독성물질들에 의해서 손상을 받게 되면 지질성분의 산화반응이 촉진되어 나타나는 반응산물이다.^{66,67)} 이를 바탕으로 과산화지질 함량변화를 관찰하였을 때, cholesterol만을 투여한 경우 함량이 증가하였으나 桂枝茯苓丸 추출물을 투여한 군에서는 cholesterol만을 투여한 군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 이러한 실험결과는 桂枝茯苓丸 추출물의 투여에 의하여 cholesterol을 감소시킬 수 있는 기전이 지질의 과산화를 방지하여 나타나는 것으로 예상할 수 있다.

생체 내에서 생합성 되어지는 tripeptide로서 구조가 단순하면서도 활발한 생리작용을 지니고 있는 glutathione은 肝臟에서 주로 생성되며 여러 장기에 널리 분포하는 解毒物質이다.⁶⁸⁾ glutathione은 外部에서부터 유입되어 들어온 毒性物質들과 쉽게 抱合反應을 하여 體外로 排泄시키는 생화학적 기능

을 지니고 있으므로⁶⁹⁾ 조직중의 glutathione 함량을 측정하므로써 독성물질에 대한 생체의 방어능력을 간접적으로 측정할 수 있을 것이다. glutathione 함량에 미치는 桂枝茯苓丸의 영향을 관찰하였을 때 cholesterol을 투여한 경우 glutathione의 함량은 정상군에 비해 유의성 있게 감소하였으나 桂枝茯苓丸을 투여한 경우 유의성 있게 증가하였다.

세포내 존재하는 항산화 효소로 H₂O₂를 분해하여 제거하는 작용을 가진 catalase 활성⁷⁰⁾에 어떤 영향을 미치는지를 調査한 결과 H₂O₂를 처리한 조직에 比하여 桂枝茯苓丸 추출물을 첨가한 후 H₂O₂를 처리한 조직에서 catalase의 활성이 유의하게 증가되었다.

체내에서 생성된 활성산소를 분해시켜 해독하므로써 생체보호작용을 하는 효소로 알려진⁷¹⁾ superoxide dismutase(SOD)활성을 관찰하였을 때도 cholesterol에 의해서 감소되던 효소활성들이 桂枝茯苓丸 추출물의 투여에 의해 유의성있게 증가됨을 확인할 수 있었다.

이러한 활성산소 관련 효소계의 변화를 관찰한 실험 결과는 桂枝茯苓丸 추출물은 활성산소의 분해를 촉진시키므로써 활성산소에 의한 생체의 oxidative stress를 현저하게 감소시킬 수 있을 것으로 생각되며 이로 인해서 cholesterol의 개선 효과가 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

이상의 결과들을 종합하여 볼 때 cholesterol은 활성산소류의 생성을 증가시키며 이와 병행하여 분해계 효소인 glutathione, catalase, superoxide dismutase(SOD)의 활성을 감소시켜 세포의 손상을 야기시키는 것으로 사료되어 진다. 이때 桂枝茯苓丸 추출물이 지질의 과산화를 억제하고 glutathione과 같은 체내 항산화물질을 증가시키는 작용을 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 실험 결과는 향후 활성산소류의 생성증가로 인한 cholesterol의 原因 규명과 치료에

기여할 것으로 생각되며 추후 계속적인 연구를 수행하여 보다 구체적인 작용양상을 규명할 계획이다.

V. 結論

고 cholesterol 식이 마우스에 桂枝茯苓丸을 음용 시켰을 때 약물의 항산화효과를 간과 신장조직 중에서 lipid peroxide (LPO), glutathion (GSH), catalase 및 superoxide dismutase (SOD)의 활성을 관찰한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Lipid peroxide (LPO) 함량은 간에서는 대조군에 비하여 감소하였으며, 신장에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
2. Glutathion (GSH)함량은 간과 신장 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.
3. Catalase 활성은 간과 신장 모두 대조군에 비하여 증가하였다.
4. Superoxide dismutase (SOD)활성은 간과 신장 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

VI. 參考文獻

1. 강병수 외:本草學, 永林社, 서울, p.124, 302, 193, 581, 423, 1991.
2. 金定濟:診療錄鑑下, 서울, 東洋醫學研究所, p.107, 114, 118, 1975.
3. 唐慎微:大觀本草, 서울, 高文社, p.215, 254, 331, 338, 520, 1976.
4. 王昂:本草備要, 서울, 高文社, p.44,104, 108, 143, 1974..
5. 李尙仁 外:漢藥臨床應用, 成輔社, 서울,

- p.46, 47, pp.79-81, 124-125, 171-173, 317-320, 339-340, 1982.
6. 李尙仁:本草學, 서울, 修書院, p.191, 230, 281, 282, 295, 296, 466, 467, pp.469-471, 533-534, 1981.
7. 李時珍:本草綱目, 서울, 高文社, pp. 494-495, 496-497, 996-996, 1103, 1224-1225, 1977.
8. 許浚:東醫寶鑑, 南山堂, 서울, p.487, p p.490-491, p.614, 712, 727, 1976.
9. 唐慎微:經史證類大關本草, 서울, 崇文社, p.140, 195, 212, 276, 500, 1976.
10. 江蘇新醫學院編:中藥大辭典(下), 香港, 上海科學技術出版社, p.1598, 1773.
11. 江蘇新醫學院編:中醫大辭典, 上海, 商務印書館, pp.706-709, 1127-1130, 1596-1599, 1771-1773, 1787-1789, 1979.
12. 姜春華:中醫對痧的認識及其治療方法, 上海, 上海科學技術出版社, p.2, pp.4-10, 12-13, 1981.
13. 龔庭賢:增補萬病回春, 서울, 醫文社, p.250, 1975.
14. 唐容川:中西匯通醫書五種(下), 서울, 東南出版社影印, p.1119,pp.1198-1206, 1984.
15. 武之望:濟陰綱目, 台北, 旋風出版社, p. 264, 365, 384, 1976.
16. 白剛 等:中藥方劑研究與應用, 北京, 中國科學技術出版社,pp.775-783, 1984.
17. 上海中醫學院編:中醫學基礎, 上海, 商務印書館, pp.43, 166-167, 1977.
18. 上海中醫學院編:中草藥學, 上海, 商務印書館, p.27, 127, 226, 379, 566, 1977.
19. 上海中醫學院編:中草藥學, 上海, 商務印書館香港分館, pp.27-28, 127, 226-228, 379-380, 1977.
20. 徐大春:徐氏醫書十六種, 上海, 綿文社, p.971, 976, 977, 1935.
21. 時逸人編:中國婦產病學, 香港, 千頃堂

- 書局. p.58, 71, 1955.
22. 原安徽中醫學院:中醫臨床水冊. 香港. 商務印書館香港分館. p.151, 257, 263, 278, 1975.
 23. 范崔生:中藥的應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.50-51, 84-88, 121-123, 202-204, 268-269, 271-272, 1989.
 24. 沈金鰲:婦科玉尺, 台北, 自由出版社, p.101, 1969.
 25. 顏德馨:活血化癥療法臨床實踐, 云南人民出版社, pp.1-10, 33-40, 1980.
 26. 王肯堂:女科準繩(卷四), 台北, 集文書局, p.350, 1974.
 27. 王浴生 外:中藥藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.67-74, 529-531, 767-769, 862-864, 1983.
 28. 王瑞根:桂枝茯苓丸의 臨床運用. 雲南中醫雜誌, 6:14-42, 1980.
 29. 王清任:醫林改錯, 台北, 台聯國風出版社, pp.1-71, 1975.
 30. 魏菊仙 等:中醫名方應用進展, 北京, 中國醫藥科學技術出版社, pp.419-423, 1991
 31. 李克光 等:金匱要略, 人民衛生出版社, 北京, p.557, 1989.
 32. 張機:金匱要略方論, 台北, 臺聯國風出版社(卷下), p.93, 1973.
 33. 張機(蔡仁植譯):傷寒論譯註, 高文社, 서울, pp.177,188, 1975.
 34. 張機:仲景全書. 台北. 集文書局. pp.172,-173, 228, 236, 1972.
 35. 宗文九:痰飲淺說, 上海, 上海科學技術出版社, pp.1-9,24-25,51-59, 1985.
 36. 胡安裘:實用藥性大辭典. 香港. 永經堂醫局 p.67, 186, 1953.
 37. 高山宏世:中醫方劑病證圖解, 山西科學技術出版社, pp.274-275, 1991.
 38. 久保道德, 谿忠人:漢方醫藥學, 서울, 東南出版社影印, p.205, 227, 312, 1984.
 39. 松岡健平 外:성인병의 예방과 치료, 서울, 일월각, pp.133-134, 137-138, 154-155, 184-185, 1987.
 40. 文宗模:桂枝茯苓丸, 抵當湯 및 桂枝茯苓丸 合抵當湯이 Endotoxin으로 誘發된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響, 대전대학교 대학원 석사학위논문, 1996.
 41. 申鎭湜:실험적 肝瘀血에 미치는 桂枝茯苓丸 및 그 加味方의 효과에 관한 연구, 경희대학교대학원 박사학위논문, 1985.
 42. 松岡健平 外:성인병의 예방과 치료, 서울, 일월각, pp.133-134, 137-138, 154-155, 184-185, 1987.
 43. 이필래:桂枝茯苓丸과 그 構成 藥物이 瘀血 病態에 미치는 영향,경희대학교 박사학위논문, 1997.
 44. 崔奎燮:桂枝茯苓丸 煎湯液이 白鼠 子宮筋의 諸運動 및 血液像에 미치는 影響, 원광대학교 대학원 석사학위논문,1986.
 45. 하동주:桂枝茯苓丸이 實驗動物의 鎮痛, 抗炎, 抗痙攣, 筋弛緩 및 正常體溫에 미치는 影響, 원광대학교 대학원 석사학위논문, 1993.
 46. 한승섭:桂枝茯苓丸이 瘀血病態模型에 미치는 영향, 경희대학교 석사학위논문, 1992.
 47. 高嵩:桂枝茯苓丸治療前列腺肥大證, 浙江中醫雜誌, (11):493, 1983.
 48. 董杏初, 谷明志:桂枝茯苓丸治療癥閉, 四川中醫, (9):26, 1989.
 49. 梁達翰:活血化癥在內科臨床的應用, 遼寧中醫雜誌, 4:26, 1985.
 50. 汪承柏:如何選用活血化癥方藥治療肝炎, 中醫雜誌, 10:29-31, 1985.
 51. 王瑞根:桂枝茯苓丸의 臨床運用, 云南中醫雜誌, 6:41-42, 1980.
 52. 劉緒英 等:河南中醫, 제15권 제6기, pp.74-75, 1995.
 53. 陸永昌:活血化癥法的源流簡述, 山東中醫學院學報, Vol. 6, No.4, p.61, 1982.
 54. 李玉華:活血化癥法異病同治五則, 云南中

- 醫雜誌, 4:7, 1982.
55. 肖澤泉:桂枝茯苓丸治帶證癰閉, 四川中醫, (8):38, 1989.
56. 祝建華:桂枝茯苓丸治療 慢性腎炎 98例, 河南中醫, 제16권 제2기, p.17, 1996.
57. 夏禮清:桂枝茯苓丸用于多種婦科血證小結, 浙江中醫雜誌, (6):254, 1983.
58. 黃道富, 肖美珍:桂枝茯苓丸治滑胎, 四川中醫, (6):19, 1989.
59. 今田屋 章:漢方の臨床, 제6권, pp.87-99, 1996.
60. 東一經:漢方の臨床, 제10권, pp.11-15, 1995.
61. 小暮敏明 等:日本東洋醫學雜誌, 제47권 제1호, pp.43-48, 1996.
62. 重久守雄:桂枝茯苓丸エキスが著効した皮下出血の2例, 瘀血研究, 6:87-88.
63. Autor, A. ed. Pathology of Oxygen. Academic Press, Newyork 1982.
64. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A., Phys.Rev., 59, 527-605, 1979.
65. Cross, E.C., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., Mccord, J.M. and Harman, D., Ann. Intern. Med., 197, 526-545, 1987.
66. David, R.:Mechanistic toxicology : A radical perspective. J.P harm. pharmacol., 41, 505-511, 1989.
67. Barry, H : Oxidants and human disease : Some new concepts, FAS EB. J., 1, 358-364, 1987.
68. Boyland, E. and Chasseud, L. F. : The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. ADV. Enzymol. 32:173-219, 1969.
69. Ross, D. : Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents : Mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. Pharmacol. Ther., 37 (2):231-239, 1988.
70. Ross D and Moldeus P : Antioxidant defence systems and oxidative stress. In: Membrane Lipid Oxidation, ed. by Vigo-Pelfrey C., Vol II, CRC Press, Boston, pp.151-170, 1993.
71. McCord, J.M. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase, An enzymatic function for erythrocyte(hemocuprein). J. Biol. Chem., 244: 604:6049-6055, 1967.
72. Aebi, H..In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U. eds.), New York, Academic Press, pp.674-678, 1974.
73. Ellman, G. L., Tissue sulfhydryl group. Arch. Biochem. Biophys., 82 : 70-77, 1959.
74. McCord, J. M., Fridovich, I., Superoxide dismutase, An Enzymatic function for erythrocyte(hemocuprein), J. Biol. Chem., 244 : 6049-6055, 1967.
75. Ohkwa, H., Ohishi, N., Yaki, K., Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, Anal Biochem., 95 : 351-358, 1979.

=Abstract=

Antioxidant effects of Geagibokrounghwan(桂枝茯苓丸) in experimental mouse fed cholesterol.

Seung-Hun Lee · Sun-Dong Park · Won-Hwan Park¹⁾

Department of Prescription,

¹⁾*Department of Diagnostics, College of Oriental Medicine, Dongguk University*

This study was made to investigate the antioxidative effects of Geagibokrounghwan on the hepatic and renal lesion induced by cholesterol in mouse.

The normal group was fed basal diet and water ; control groups were fed basal diet containing 0.5% of cholesterol ; test groups were fed the Geagibokrounghwan extract (10ml/kg) after fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks.

In the liver and kidney of control group, lipid peroxidation(LPO) was significantly increased, however, the activities of superoxidation dismutase(SOD) and catalase and the amount of glutathion(GSH) were significantly decreased.

In the liver and kidney of test group, lipid peroxidation(LPO) was decreased significantly as compared with control group. Contrary to this, the activities of superoxide dismutase(SOD), catalase and the amount of glutathion(GSH) were significantly increased.

These results indicate that Geagibokrounghwan revealed the antioxidant effects, which may reduce the hepatic and renal damage induced by cholesterol in mouse.

Key words : Antioxidant effects, cholesterol, Geagibokrounghwan