

녹양보탕의 항피로 및 항산화작용

김창종[#] · 김현준 · 이윤혜 · 이연아 · 이정근 · 문성원 ·
박진형 · 장용운 · 조중형 · 심상수

중앙대학교 약학대학 병태생리학교실

(Received March 31, 2000)

Anti-fatigue and Hepatoprotective Activities of Nokyangbotang

Chang Jong Kim[#], Hyun Jun Kim, Yun Hye Lee, Yun Ah Lee, Jung Keun Lee,
Sung Won Moon, Jin Hyoung Park, Yong Un Jang,
Jung Hyung Cho and Sang Soo Sim
College of Pharmacy, Chung-Ang University

Abstract — NokyangbotangTM (NYBT) is a kind of powerful food for health and have been drunk at a oral dose of 80 ml (99.5 mg) three times per day. It has not been well studied about the anti-fatigue and hepatoprotective activity. In this experiments, we evaluated pathophysiologically the effect of NYBT on swimming time in mouse and hepatoprotective activity in rats intoxicated with carbon-tetrachloride. NYBT was non-toxic in orally acute toxicity test (LD₅₀, >320 ml/60 kg): a nontoxic food in more four times of one-shoot dosage (80 ml) to human. Weight-loaded forced swimming test was carried out to measure the swimming time of mice with a 4% load of body weight in plastic cylinder (diameter 10 cm × height 20 cm) on water bath at 25°C, and the anti-fatigue activity represented the ratio of swimming time of experimental group to that of control group. NYBT had dose-dependent anti-fatigue activity. Mice administered NYBT at a dose of 320 ml/60 kg once daily for 5 days could swim about two times more than control. Hepatoprotective activities of NYBT were examined by the determination of malonaldehyde (MDA) and pathological survey in liver, and liver function test of rat intoxicated with CCl₄ at i.m. dose of 2 ml/kg once daily for 7days. NYBT decreased dose-dependently thiobarbituric acid reactive substance: Oral administration of NYBT at a dose of 20 ml/60 kg was 38.51 ± 3.02 nmol MDA/g of tissue, that of 80 ml/60 kg was 33.76 ± 1.84 nmol MDA/g of tissue, and that of 320 ml/60 kg was 32.87 ± 1.90 nmol MDA/g of tissue as compared with control group (43.61 ± 2.85 nmol MDA/g of tissue). All rats administered NYBT at a dose of 320 ml/60 kg were survival as compared with 40% survival of control animals, and GPT activity of rats administered NYBT at a dose of 80 ml/60 kg was decreased as compared with control. In histopathological survey, NYBT improved slightly the fatty changes of hepatocytes around centrilobular area. These results suggest that NYBT has anti-fatigue and hepatoprotective activity in rats and mice.

Keywords □ Nokyangbotang, anti-fatigue activity, weight-loaded forced swimming test, antioxidative activity.

청성 녹양보탕(淸誠 鹿羊補湯)은 청성애원주식회사(淸誠愛園柱式會社)에서 생산한 식품(허가번호: 강원 평창 제11-22호)으로서 사슴엑스와 흑염소 엑스 및 녹용 엑스가 주원료로 포함되어 있고, 부 원료로 생강, 대추,

인삼, 당귀, 천궁, 숙지황, 작약, 감초, 백복령, 황기, 진피, 산사, 산약, 사인, 맥아, 두충, 오가피, 백출 및 계피 등이 포함되어 있어 신체의 생리활성을 높여 줄 수 있는 생약이 함유되어 있다.

이러한 고열량 엑스와 생리활성을 갖는 생약이 함유되어 있어 이들의 생리활성이 있을 것이라 예측된다. 즉 이 엑스제에 함유된 사슴 및 흑염소 엑스는 열량가

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-820-5600 (팩스) 02-821-7680

가 높은 식품이며, 여기에 함유되어 있는 생약제들은 보혈강장제들이 많이 함유되어 있다. 즉, 한방에서는 주성분인 녹용(*Cornu cervi parum*)¹⁾은 강장제로서 신체의 활동능력을 높이고, 수면과 식욕을 개선하고, 근육의 피로를 저하시키며, 쇠약한 심장에 대해 강심작용이 현저하고, 적혈구수와 hemoglobin치를 증가시킨다고 알려져 있어 전신허약 및 피로시에 쓰여 왔다. 녹용에탄을 추출물은 부교감신경을 흥분시키고, 신경과 근육계의 기능을 개선시키며, 내분비계 활성을 항진시키며, 그 운동을 증가시킨다고 알려져 있다. 또 당귀(*Angelicae gigantis radix*)²⁾는 보혈강장 및 활혈효과가 있어 혈행장애에 의한 부인과질환에 쓰이고 있다. 천궁(*Cnidii rhizoma*)³⁾은 구어혈 효과가 있어 진정, 빈혈, 두통 등에 쓰이고 있다. 숙지황(*Rehmanniae radix preparata*)^{4,8)}은 강심, 신혈관 확장, 혈당강하작용, 보음, 보혈, 율혈 등 출혈성 질환에 쓰인다. 황기(*Astragali radix*)^{9,20)}는 기혈양허, 원기부족, 지한 등에 쓰인다. 또 오가피(*Acanthopanax cortex*)²¹⁾는 강장효과가 있어 병후회복, 면역저하에 쓰일 수 있다고 알려져 있다. 그러나 이와 같은 녹양보탕은 열량가가 높고, 건강보조 효과가 있다고 생각되나 실험적으로 연구된 바 없다. 따라서 피로의 억제력을 시험하는 방법을 개발하여 녹양보탕이 지구력을 증진시키는지 연구할 가치가 있다.

신체가 피로하게 느끼는 생리 및 생화학적 기전은 이미 밝혀졌다고 볼 수 있다. 피로를 측정하는 실험방법에는 동물의 수영시간 및 휴식시간을 측정하는 forced swimming test²²⁾ 및 밧줄타는 운동시간을 측정하여 운동시간을 33% 연장시키는데 소요된 물질의 투여량으로 표현하는 Stimulation Unit of Activity (SUA33)²³⁾가 있으나 저자의 예비실험 결과 동물의 개체차가 심하여 좋은 실험모델이 될 수 없다고 판단되어 항피로작용을 측정할 수 있는 모델을 작성할 필요가 있다. 특히 Noda 등²⁴⁾은 forced swimming test를 개량하여 피로시험을 실시하여 변화되는 혈중의 superoxide 등을 정량하여 항피로작용을 시험하였다. 본 연구자들은 forced swimming test를 개량하여 동물 체중에 일정량의 하중을 주어 수영시간을 측정하는 소위 "4% weight-loaded forced swimming test"로 항피로작용을 측정하는 방법을 개발하여 측정하였다. 한편 녹양보탕의 건강보조효과를 측정하기 위하여 mouse에서 swimming time과 흰쥐에서 사염화탄소에 의한 지질과산화, 간기능 및 조직소견을 얻어 녹양보

탕의 생리활성을 측정하였다.

실험방법

재료 - 녹양보탕의 조성은 Table I과 같다. 주원료로서 사슴엑스, 흑염소 엑스 및 녹용엑스가 각각 28.6, 8.98 및 2.82%가 함유되어 있고, 부원료로서 생강, 대추, 인삼, 당귀, 천궁, 숙지황, 작약, 감초, 백복령, 황기, 진피, 산사, 산약, 사인, 맥아, 두충, 오가피, 백출 및 계피 등의 생약이 포함되어 있는 갈색의 액제이다. 사용한 실험재료는 1999년 2월 28일에 제조한 Lot. No.99-2-28로서 액제를 사용하거나 냉동건조(80 m/g 7.48 g)하여 증류수에 희석하여 경구 투여하였다.

시약 - 간기능검사 시약으로 사용한 glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, alkaline phosphatase, total cholesterol, total bilirubin 및 blood urea nitrogen Kit시약은 Stanbio Laboratory Inc.(U.S.A., Texas) 제품을 사용하였으며, thio-barbituric acid 및 1,1,3,3-tetraethoxypropane은 Sigma 사(U.S.A.)제품을 사용하였으며, 기타 시약은 1급시약

Table I - 녹양보탕 (Nokyangbotang) 의 조성

품 명	배합율 (%)	
주원료	사슴엑스	28.61
	흑염소엑스	8.98
	녹용엑스	2.82
부원료	생강엑스	0.89
	대추엑스	1.88
	인삼엑스	0.3
	당귀엑스	3.14
	천궁엑스	3.14
	숙지황엑스	3.14
	작약엑스	3.14
	감초엑스	3.14
	백복령엑스	3.14
	황기엑스	3.14
	진피엑스	3.14
	산사엑스	3.14
	구기자엑스	3.14
	산약엑스	3.14
	사인엑스	3.14
	맥아엑스	3.14
	두충엑스	3.14
오가피엑스	3.14	
하수오엑스	3.14	
백출엑스	3.14	
계피엑스	3.14	

을 사용하였다.

실험동물 사육조건 - 실험동물은 체중 18 ± 5 g의 ICR계 mouse를 중앙대학교 약학대학 동물사육장의 SPF실(Techniplast Co., Italy)에서 실온은 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 상대습도 $60 \pm 2\%$, 환기회수 13~15회/hr, 조명 12 hr/day(오전 7시~오후 7시)으로 설정하여 사육하였다. 동물은 환귀용 cage에 넣고 방사선멸균한 고형사료(한일사료 : 그린피아주식회사) 및 음료수(가열멸균한 수돗물)는 자유로이 섭취하도록 하였다.

Weight-Loaded Forced Swimming Test (WLFST) - Toshitsugu Moriura²⁵⁾와 David L. 등²⁶⁾의 weight-loaded forced swimming test를 개량하여 실시하였다. 직경 10 cm, 높이 20 cm의 투명한 원통 플라스틱 용기에 증류수를 15 cm 까지 채우고 25°C 항온조에 넣어 일정한 온도를 유지하면서 동일한 시간에 10개의 수영조에서 10마리 mouse의 수영 시간을 동시에 측정하였다. 수영실험은 12시간 절식시킨 후 체중을 달고 체중에 2, 3, 4 및 5%의 납줄을 달아 목에 걸고 수영을 시켰으며, 수영종료는 두 눈이 잠길 정도의 수영이 5초간 진행되어 가라앉게 될 때를 수영가능 시간으로 종료하였다. 동물의 수영기간 측정은 생리식염수를 투여한 대조군과 녹양보탕을 용량별로 투여한 실험군을 동시에 부유시켜 동일한 시간에 동일한 조건으로 측정하였다. swimming time의 판정 기준은 유영을 처음 시작한 후 두 눈이 완전히 수면하로 5초이상 잠수될 때까지로 정하였다. 건강식품은 투여기간에 따른 효과를 관찰하기 위하여 10마리를 1군으로하여 실험전 1, 3, 5 및 7일간 투여한 실험군으로 분류하여 실험하였으며, 건강식품의 투여량에 따른 효과를 관찰하기 위하여 녹양보탕을 60 kg당 20, 80 및 320 ml를 경구투여 하였으며, 마지막 건강식품의 투여는 실험 30분전에 경구투여 하였다. 대조군에는 생리식염수를 경구투여 하였다.

흰쥐의 간상해 유발 - 흰쥐 10마리를 1군으로하여 1주일간 매일 1회씩 CCl_4 액(2 ml/kg)을 흰쥐에게 피하 주사하여 간독성을 유발시켰다. 녹양보탕을 60 kg당 20, 80 및 320 ml를 경구투여하였다. 실험군은 사염화탄소 투여 1시간 전에 미리 녹양보탕을 경구투여 시켰고, 모든 실험동물을 제8일째에 12시간 절식시킨 다음 에텔로 마취하여 개복하고 하대정맥에서 채혈하여 간기능검사에 사용하였고, 간문맥에 catheter를 삽입하고 Tris-HCl buffer로 관류시켜 간내 혈액을 제거한

후 간을 절취하였다. 절취한 간 3 g을 정확히 달아 thiobarbiturate reactive substances(TBARS)²⁵⁾를 정량하는데 사용하였고, 나머지 간조직은 통상적인 조직표본을 제작하는데 사용하였다. 녹양보탕은 실험군에는 60 kg당 20, 80 및 320 ml를 경구투여하였고, 대조군에는 생리식염액을 경구투여하였다.

간기능검사 - 위에서 채혈한 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 혈장을 얻어 GOT 및 GPT(이상 UV rate법, 자동분석장치, CH 16: Texas International INC.)를 측정하고, 나머지 무처리 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 혈청을 얻고, AL-P(Bessey-Lowry법), total cholesterol(CEH-COD-POD법), total bilirubin(azobarbin법), blood ureanitrogen(Urease-GLDH법) 및 총단백질(Biuret법)(이상 UV rate법, 자동분석장치(Monach : Instrumentation Laboratory)로 측정하였다.

Thiobarbiturate-reactive substances (TBARS) assay^{25,27)} - 과산화지질형성은 TBARS를 정량하여 lipid peroxidation을 평가하였다. 즉 위에서 적출한 간 조직을 4배량의 Tris-HCl buffer(pH 7.0)에 넣은 후 cold ice상에서 1분간 homogenizing 시킨 후 4°C 에서 $600 \times \text{g}$ 로 10분간 원심분리하였다. 상등액 0.3 ml를 취하고 여기에 8% trichloroacetic acid 용액 0.9 ml를 넣어 4°C 에서 $10,000 \times \text{g}$ 로 5분간 원심분리한 후 상등액 1 ml를 시험관에 취하였다. 여기에 1% thiobarbituric acid(TBA) 용액 0.25 ml를 가하고 100°C 에서 20분간 가열한 후 냉각시킨 다음 n-butanol 2 ml를 첨가하고 90초 동안 vortex시켰다. 4°C 에서 $3000 \times \text{g}$ 로 5분간 원심분리한 후 butanol phase 1 ml를 취하여 spectrophotometer로 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 1, 1, 3, 3-tetraethoxypropane으로 하여 정량하였다.

통상조직표본 제작 - 위에서 얻은 간조직을 10% formalin 액에 고정한 후 통상적인 조직표본을 제작하고 hematoxylline & eosin 중복염색하여 조직소견을 얻었다.

LD₅₀ 측정 - 암수 mouse에서 LD₅₀을 측정하기 위하여 인체에 투여하는 용량을 감안하여 5군, 60 kg당 20, 40, 80, 160 및 320 ml 투여군으로 하였다. 이는 동물 kg당 0.33, 0.66, 1.33, 2.66 및 5.32 g을 투여한 것과 같다. 투여군과 대조군으로 나누어 10마리를 1군으로 하여 각각 경구투여하고 2주내에 사망

한 동물수를 세어 Brehrens-Kärber법²⁸⁾에 의하여 LD₅₀를 계산하였다.

통계처리 - 본 실험의 모든 결과는 Student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

하중이 수영기간에 미치는 영향 및 항피로측정 모델

작성 - 정상 mouse는 2시간이상 수영할 수 있어 수영 시간을 관찰하는데 시간이 많이 걸리고, 수영종료시에도 수영가능 종료시간을 측정하기가 어렵다. 따라서 mouse의 체중에 비례하여 일정량의 하중을 주어 실험하고 수영종료시간을 두눈이 5초이상 수면하에 침몰되는 시점으로 정하여 실험한 결과, 2%하중을 줄 경우는 수영시간이 118.84분, 3%하중을 줄 경우는 81.29분, 4%하중을 줄 경우는 31.93분, 5%하중을 줄 경우는 5.02분으로 하중의존적으로 수영시간이 단축되었다. 따라서 mouse에 4%하중을 주어 건강식품의 항피로효능을 검색하는 것이 가장 이상적이라고 생각된다(Fig. 1).

녹양보탕의 항피로작용 - 위에서 설정한 4% 하중 부하 mouse에서 시판중인 녹양보탕의 항피로작용을 측정된 결과 다음과 같이 항피로효능이 있었다(Fig. 2). 4% 하중부하를 준 mouse에 녹양보탕을 1회 경구투여하고 난 30분 후에 수영시간을 측정된 결과, 대조군에서 수영시간이 15.59±7.34분이었으나, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구투여한 실험군에서는 20.27±7.74분이었으며, 80 ml/60 kg 투여군에서는 22.29±6.12분, 320 ml/60 kg 투여군에서는 23.39±2.50 분으로서 대조군에

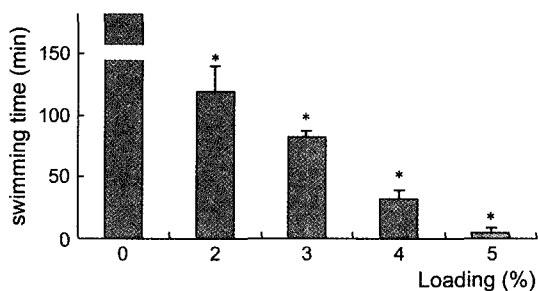


Fig. 1 - Swimming time in mice loaded with lead wire of % per body weight. Load weight was determined by the rate of body weight. End-point of swimming time shows mouse eyes could not again return to the surface of water for 5 seconds. Load-dependently different from control(*p<0.001).

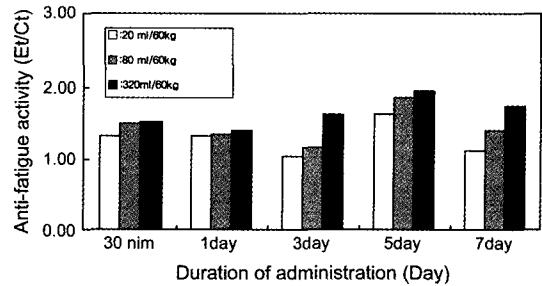


Fig. 2 - Anti-fatigue activity of Nokyangbotang in the swimming time of 4% weight-loaded mice. Anti-fatigue activity was the ratio of swimming time in experimental group (Et) to swimming time in control group (Ct). Each concentration group was mean time of 10 animals. 30 min represents swimming test 30 min after an oral administration of Nokyangbotang for 1 day and other swimming tests carried out 24 hr after the last administration of Nokyangbotang once daily.

비하여 수영시간이 용량의존적으로 증가되었다. 이들의 항피로효능을 비교하기 위하여 실험군의 수영시간을 대조군과의 백분율로 환산한 항피로효능(anti-fatigue activity)은 20, 80 및 320 ml/60kg 투여군에서 각각 1.30, 1.47 및 1.50로서 항피로작용이 용량의존성있게 증가되었다는 것을 알 수 있다(Fig. 2).

또 4%하중부하를 준 mouse에 녹양보탕을 1일 1회 경구투여하고 난 후 제 2 일 제에 수영시간을 측정된 결과, 대조군에서 수영시간이 15.14±9.32분이었으나, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구투여한 실험군에서는 15.78±8.84 분이었으며, 80 ml/60 kg 투여군에서는 20.14±10.95분, 320 ml/60 kg 투여군에서는 20.89±5.92 분으로서 대조군에 비하여 수영시간이 용량의존적으로 증가되었다. 이들의 항피로효능은 20, 80 및 320 ml/60 kg 투여군에서 각각 1.30, 1.33 및 1.38로서 용량의존적으로 경미하게 증가되었다(Fig. 2).

4%하중부하를 준 mouse에 녹양보탕을 1일 1회씩 3일간 경구투여하고 난 후 제 4일 제에 수영시간을 측정된 결과, 대조군에서 수영시간이 15.81±8.88분이었으나, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구투여한 실험군에서는 16.29±6.93분이었으며, 80 ml/60 kg 투여군에서는 18.19±5.78분, 320 ml/60 kg 투여군에서는 25.28±9.03 분으로서 대조군에 비하여 수영시간이 용량의존적으로 증가되었다. 이들의 항피로효능은 20, 80 및 320 ml/60 kg 투여군에서 각각 1.08, 1.15 및 1.60

으로서 용량의존적으로 증가되었다(Fig. 2).

4% 하중부하를 준 mouse에 녹양보탕을 1일 1회씩 5일간 경구투여하고 난 후 제 6일 째에 수영시간을 측정한 결과, 대조군에서 수영시간이 17.66 ± 5.47 분이었으나, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구투여한 실험군에서는 28.31 ± 11.18 분이었으며, 80 ml/60 kg 투여군에서는 32.42 ± 7.74 분, 320 ml/60 kg 투여군에서는 34.20 ± 8.05 분으로서 대조군에 비하여 수영시간이 용량의존적으로 증가되었다. 이들의 항피로작용은 20, 80 및 320 ml/60 kg 투여군에서 각각 1.60, 1.84 및 1.94로서 용량의존적으로 증가되었다(Fig. 2).

4% 하중부하를 준 mouse에 녹양보탕을 1일 1회씩 7일간 경구투여하고 난 후 제 8일 째에 수영시간을 측정한 결과, 대조군에서 수영시간이 17.70 ± 6.50 분이었으나, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구투여한 실험군에서는 19.57 ± 6.60 분이었으며, 80 ml/60 kg 투여군에서는 24.43 ± 7.67 분, 320 ml/60 kg 투여군에서는 30.52 ± 13.20 분으로서 대조군에 비하여 수영시간이 용량의존적으로 증가되었다. 이들의 항피로효능은 20, 80 및 320 ml/60 kg 투여군에서 각각 1.11, 1.38 및 1.72로서 용량의존적으로 증가되었다는 것을 알 수 있다(Fig. 2).

이상의 실험결과로 보아 녹양보탕의 항피로작용은 1회 투여 30분 후에도 용량의존적인 효과가 있었으나 투여 24시간이 지난 후에는 용량의존성이 경미해졌다. 녹양보탕을 3, 5 및 7일간 투여군에서도 대조군보다 수영시간이 용량의존적으로 길어졌으며, 그들의 항피로작용은 5일간 투여후 제 6일째에 가장 효과가 크다는 것을 보여 주었다.

항산화작용 - 사염화탄소²⁷⁾는 cytochrome P-450에 의해서 생성하는 free radical인 $\cdot\text{CCl}_3$ 가 반응성이 많은 활성물질로 변화되어 간지질의 구성 불포화 지방산을 radical화하고, peroxide radical 생성을 촉진하므로 지방변성을 일으켜 지방간을 유발한다. 이러한 병리기전으로 간조직에 상해를 일으키는 지방의 산화과정에서 지방대사산물인 malondialdehyde(MDA)를 thiobarbituric acid (TBA)와 발색반응시켜서 정량하여 녹양보탕의 간해독능을 측정하였다.

흰쥐에 사염화탄소를 2 ml/kg씩 1주일간 매일 피하 주사하고 난 제8일 째에 간조직의 MDA 함량(nmol MDA/g)은 녹양보탕 20 mg/60 kg 투여군에서는 38.51 ± 3.02 nmol/g로서 대조군(43.61 ± 2.85 nmol/g)에 비해서 유의성있는 항산화작용이 있었으며, 또 80 mg/60

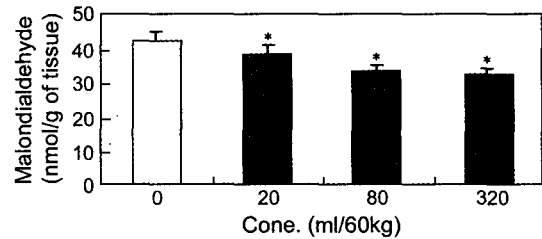


Fig. 3 - Effect of Nokyangbotang on Thiobarbituric acid-reactive substance contents in rat intoxicated with CCl_4 . Significantly different from control (* $p < 0.01$).

kg 투여군에서는 33.76 ± 1.84 nmol/g 이었고, 320 mg/60 kg 투여군에서는 32.87 ± 1.90 nmol/g로서 유의성있게 용량의존적인 항산화작용이 있음을 보여주었다.

간보호작용 - 흰쥐에 사염화탄소 2 ml/kg을 매일 1회씩 1주일간 근육주사하여 사망율과 손상된 간기능²⁹⁾을 혈중 GOT, GPT, ALP, Cholesterol, total bilirubin (TB), BUN 등을 측정하여 간기능검사를 시행한 결과, 녹양보탕은 다음과 같은 간보호작용이 있었다.

녹양보탕 80 mg/60 kg 투여군에서 GPT치는 22.3 ± 5.4 I.U./L로서 대조군(36.1 ± 9.3 I.U./L)보다 감소되었으며 유의성있게 억제되었다. 그러나 GOT, ALP, cholesterol, total bilirubin(TB) 및 BUN 치가 용량의존적으로 약간 감소되는 경향은 있었으나, 대조군 및 투여용량간에 유의성이 없었다(Table II). 또한 이 간보호 실험에서 흰쥐에 사염화탄소 2 ml/kg을 1주일간 피하주사하는 과정에서 생존한 동물수를 관찰할 때 대조군에서는 40%이었지만, 녹양보탕 20 mg/60 kg 투여군에서는 50%, 80 mg/60 kg 투여군에서는 60%이었으나, 320 mg/60 kg 투여군에서는 100% 생존되었다. 이상의 결과로 보아 녹양보탕은 독성물질에 의한 간상해를 막아주는 간보호작용이 있음을 보여주었다.

간세포상해의 예방작용 - CCl_4 를 매일 1회 2 ml/kg씩 1주일간 흰쥐에 근육주사하고 난 후 1주일째에는 Fig. 4-2에서 보는 바와 같이 중심정맥주위 간세포에 심한 지방변성이 나타났으나, 녹양보탕 80 ml/60 kg 경구투여군에서는 지방변성이 호전되었으나, 320 ml/60 kg 경구투여군에서는 용량의존적으로 호전되지 않았다. 그러므로 간보호작용을 기대할 수 있는 투여량은 80 ml/60 kg 이라고 사료된다.

LD₅₀ - 녹양보탕을 60 kg당 20, 40, 80 160 및 320 ml를 각각 경구투여하여 급성독성시험을 실시한

Table II – Effect of Nokyangbotang on the liver function in rats intoxicated with CCl₄

Drug (ml/60 kg)	n	Death (%)	GOT (I.U/l)	GPT (I.U/l)	ALP (I.U/l)	Cholesterol (mg/dl)	TB (mg/dl)	BUN (mg/dl)
0	10	60	93.2 ± 22.1	36.1 ± 9.3	191 ± 11.2	64.1 ± 7.4	0.25 ± 0.04	13.1 ± 2.1
20	10	50	84.4 ± 13.7	31.3 ± 11.2	194 ± 9.9	65.4 ± 8.5	0.22 ± 0.02	12.7 ± 3.2
80	10	40	66.3 ± 12.9	22.3 ± 5.4*	147 ± 13.4	62.1 ± 6.9	0.21 ± 0.03	11.2 ± 1.4
320	10	0	65.7 ± 7.2	29.8 ± 8.1	178 ± 14.1	60.2 ± 9.7	0.19 ± 0.02	12.8 ± 0.9

Data are shown mean ± S.D. of 10 rats.
Significantly different from control (*, p<0.05)

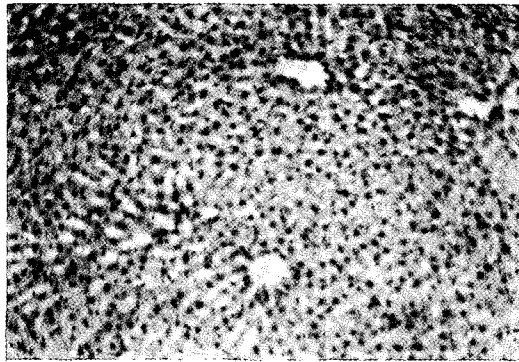


Fig. 4-1 – Liver of normal rat. Slight congestion in central vein are shown. (100x, H & E stain)

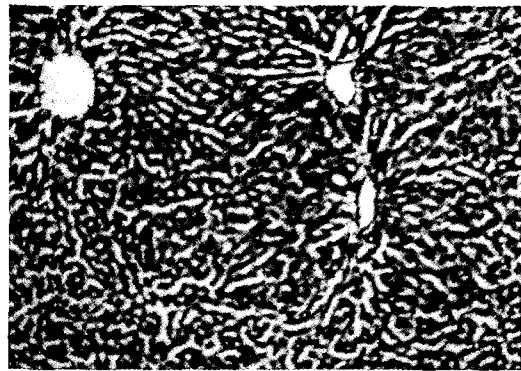


Fig. 4-3 – Liver of rat administered Nokyangbotang at a dose of 80 ml/60 kg. Baloon formation around centrilobular area decreased markedly (100x, H & E stain)



Fig. 4-2 – Liver of rat intoxicated with CCl₄ at a i.m. dose of 2 ml/kg for 7 days. Slight hepatocellular fatty changes around centrilobular area and congestion of central vein were shown (100x, H & E stain).

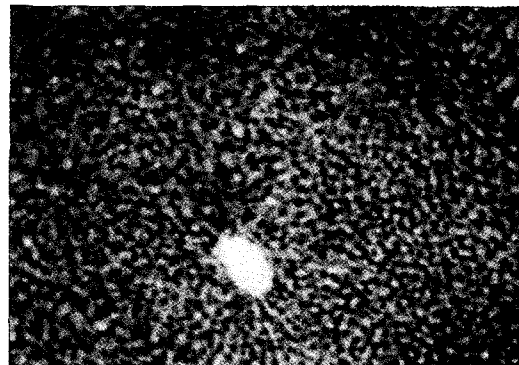


Fig. 4-4 – Liver of rat administered Nokyangbotang at a dose of 320 ml/60 kg. Pathologic changes improved to be normal (100x, H & E stain).

결과 모든 실험동물이 14일간 생존하였다. 따라서 인체 투여량의 4배 투여(체중 60 kg에 액체로서 320 ml, 냉동건조식품으로서 7.92 g)하여도 생존하였으므로 이 식품의 LD₅₀는 mouse에서 320 ml/60 kg 이상임을 보여주었으나, 더 이상의 용량을 mouse에는 경구 투여가 불가능하기 때문에 인체의 투여량인 80 ml/60

kg은 무독할 뿐만 아니라 간보호작용이 있으므로 이 식품은 거의 무독한 식품이었다.

결 론

건강식품으로 시판중인 녹양보탕의 생리활성을 측정

하기 위하여 mouse에서 수영시간과 흰쥐에서 사염화탄소에 의한 간손상에서 항산화작용, 간기능 및 간조직검사를 실시한 결과 다음과 같은 항피로 및 항산화작용이 있었다.

1. mouse에서 항피로효능시험은 납줄 (lead wire)을 체중 당 4%부하시켜 수영시간을 측정하는 4% weight-loaded forced swimming test가 이상적이었으며, 그 효능은 실험군의 수영시간/대조군의 수영시간으로 표현하는 방법이 이상적이었다.

2. 녹양보탕은 mouse 체중 60 kg당 20, 40, 80 160 및 320 ml를 각각 경구투여하여 단회경구독성시험을 실시한 결과 모든 실험동물이 14일간 생존하므로서 녹양보탕의 건조엑스로 계산할 때 LD₅₀는 320 ml/60 kg 이상이였다. 따라서 이 식품은 인체의 1회 투여량(80 ml)의 4배 이상을 투여하여도 무독한 식품이라 사료된다.

3. 녹양보탕을 1회 투여 30분 후에도 용량의존적인 항피로효과가 있었으나 투여 24시간이 지난 후에는 용량의존성이 경미해졌다. 녹양보탕을 매일 1회씩 3, 5 및 7일간 각각 경구투여한 실험군에서는 대조군의 수영시간보다 용량의존적으로 증가되었으며, 그들의 항피로작용은 5일간 투여후 제 6일째에 가장 효과가 증가되었다는 것을 보여 주었다.

4. 녹양보탕의 항산화작용은 흰쥐에 매일 사염화탄소 2 ml/kg씩을 7일간 피하주사로 손상된 간조직의 지방산화를 malonedialdehyde(nmol MDA/g tissue) 정량으로 측정된 결과, 녹양보탕 20 ml/60 kg을 경구 투여한 실험군에서 38.51±3.02 nmol로서 대조군의 43.61±2.85 nmol/g에 비해서 억제되었고, 녹양보탕 80 ml/60 kg 투여군에서는 33.76±1.84 nmol/g, 320 mg/kg 투여군에서는 32.87±1.90 nmol/g으로서 유의성있는 항산화작용이 있었다.

5. 매일 1회 사염화탄소 2 ml/kg씩을 7일간 피하주사하여 간상해를 유발시킨 흰쥐의 생존율을 관찰한 결과, 녹양보탕 20 ml/60 kg 투여군에서는 40%, 80 ml/60 kg 투여군에서는 60%, 320 ml/60 kg 투여군에서는 100%가 생존하여 간보호작용이 있음을 보여 주었다. 또 생존한 동물의 간기능을 검사한 결과, 80 ml/60 kg 투여군에서는 GPT치가 22.3±5.4 I.U./L로서 대조군(36.1 I.U./L)에 비하여 유의성있게 억제되었으나 정상치였으며, 다른 간기능검사치, GOT, ALP, Cholesterol, Total bilirubin 및 BUN 등에서 유의성

은 없지만 농도 의존적인 감소가 있었다.

감사의 글

본 연구는 청성애원주식회사(淸誠愛園株式會社)의 지원으로 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) 福田得志, 和漢藥, 日本, 東京, pp.777 (1988).
- 2) Shimizu, M., Matsuzawa, T., Suzuki, S., Yoshizaki, M., and Morita, N.: Evaluation of Angelicae radix (Touki) by the inhibitory effect on platelet aggregation. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **39**(8), 2046 (1991).
- 3) Ohta, S., and Sakurai, N. : Studies on chemical protectors against radiation. XXX. Radioprotective substances of Cnidii rhizoma. *Yakugaku. Zasshi.*, **110**(10), 746, (1990).
- 4) Kubo, M., Asano, T., Matsuda, H., Yutani, S., and Honda, S. : Studies on Rehmanniae radix. III. The relation between changes of constituents and improvable effects on hemorheology with the processing of roots of Rehmannia glutinosa. *Yakugaku. Zasshi.*, **116**(2), 158 (1996).
- 5) Kubo, M., Asano, T., Shiimoto, H., and Matsuda, H. : Studies on rehmanniae radix. I. Effect of 50% ethanolic extract from steamed and dried rehmanniae radix on hemorheology in arthritic and thrombotic rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**(9), 1282 (1994).
- 6) Hou, S., and Sheng, J. : Nourishing yin action of the prepared rhizoma Rehmanniae. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, **17**(5), 301 (1992).
- 7) Cao, Z. L., Zhu, M., Liu, H. X., Xiao, Z. M. : Effects of radix Rehmanniae and processed radix Rehmanniae on some immune functions in mice. *Chung Yao Tung Pao*, **13**(10), 22 (1988).
- 8) Yi, N. Y., Feng, G.P., Yu, Y. M., Lin, Y. Z., Rong, Z. X., Xia, Z. Q., Zhang, S. D., and Hu, Y. E. : The action of radix Rehmanniae and Plastrum testudinis on beta-adrenergic receptor-cAMP system. *Chin. Med. J.*, **100**(11), 893, (1987).
- 9) Wang, D., Shen, W., Tian, Y., Sun, Z., Jiang, C., and Yuan, S. : Protective effect of active components extracted from radix Astragali on human erythrocyte

- membrane damages caused by reactive oxygen species. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, **21**(12), 746 (1996).
- 10) Kajimura, K., Takagi, Y., Miyano, K., and Sawabe, Y. : Polysaccharide of Astragali radix enhances IgM antibody production in aged mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **20**(11), 1178 (1997).
 - 11) Ying, M., Li, X., Sun, C., Wu, K., Cong, J., and Wang, D. : Effect of total flavonoids of radix Astragali on free radical production by myocardial ischemia-reperfusion in rats. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih* **21**(5), 304 (1996).
 - 12) Kajimura, K., Takagi, Y., Ueba, N., and Yamasaki, K. : Protective effect of astragali radix by oral administration against Japanese encephalitis virus infection in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**(9), 1166 (1996).
 - 13) Xi, S., Ruan, Y., and Zhang, L. : The inhibitory effects of Radix Astragali on hypoxic pulmonary hypertension of rats. *Chung Hua Ping Li Hsueh Tsa Chih*, **25**(4), 236 (1996).
 - 14) Kajimura, K., Takagi, Y., and Ueba, N.: Protective effect of Astragali Radix by intraperitoneal injection against Japanese encephalitis virus infection in mice. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**(6), 855 (1996).
 - 15) Wang, D., Shen, W., Tian, Y., Dong, Z., and Liu, G. : Protective effect of total flavonoids of radix Astragali on mammalian cell damage caused by hydroxyl radical. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, **20**(4), 240 (1995).
 - 16) Wei, R., Chen, C., Dong, J., Qiu, S., and Cao, Z. : Effect of radix Astragali and radix ginseng in enhancing the metabolism of human myocardial cells in vitro. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, **17**(3), 173 (1992).
 - 17) Liu, K. : Preliminary report on various symptoms of chronic hepatitis treated with radix Astragali and its regulative effect on levels of serum hormone. *Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, **10**(6), 330 (1990).
 - 18) Han, G. Z., Xiang, D. Y., He, Y. J., Xu, C. X., and Zhang, P. Z. : Influence of radix Astragali on noise-caused changes in hepatic glycogen content in the rat. *Chung Kuo Chung Yao Tsa Chih*, **14**(12), 750 (1989).
 - 19) Ma, R., and Xie, R. F. : The effect of Radix Astragali on mouse marrow hemopoiesis. *J. Tradit. Chin. Med.*, **3**(3), 199 (1983).
 - 20) Hou, Y. D., Ma, G. L., Wu, S. H., Li, Y. Y., and Li, H. T. : Effect of Radix Astragali seu Hedysari on the interferon system. *Chin. Med. J. (Engl)*, **94**(1), 35 (1981).
 - 21) Wang, Y. M., Chen, C. X., Ji, M., and Lin, K. H. : A study of pharmacological actions of flos Acanthopanax senticosi. *J. Tradit. Chin. Med.*, **6**(4), 297 (1986).
 - 22) Porsolt, R. D., Le Pichon M. and Jalfre M., Depressession : A new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature*, **266**, 21 (1977).
 - 23) Brekhman I. I., Eleutherococc, Scientific clinical data, USSR, Moscow. 1, (1968).
 - 24) Noda, Y., Yamaha, K., Furukawa, H. and Nabeshima, M. : Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencycline: a new model of schizophrenia. *Br. J. Pharmacol.*, **116**, 2531 (1995).
 - 25) Moiura, T., Hideeaki, and Kubo, M.: Pharmacologic Study on *Agkistrodon blomhoffi* Boie. V. Antifatigue effect of the 50% ethanol extract in acute weight-loaded forced swimming-treated rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **19**(1), 62 (1996).
 - 26) David, L. G. and Tappel, A. L. : The effect of exhaustive exercise on expired Pentane as a measure of in vivo lipid peroxidation in the rat, *Life Sci.*, **28**, 2425 (1981).
 - 27) Buege, J. A., and Aust, S. D. : Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, **52**; 302 (1978).
 - 28) Brehrens, B. und K rber, G., *Arch. Exp. Path. Pharmak.*, **12**, 53 (1935).
 - 29) Mitruka, B. M. and Rawnsley, H. M. : Clinical biochemical and hematological Reference values in normal experimental animals and normal humans, 2nd Ed, Masson Publishing U.S.A., Inc. pp.160 (1981).