

# 大柴胡湯이 alloxan으로 誘發된 高血糖 白鼠에 미치는 影響

朴宣東 · 尹炳局\*

## Abstract

### Effects of *Daesihotang* and its component groups on diabetes, free radical and antioxidative defense system in alloxan induced diabetic rats

The purpose of this study was to research the effect of *Daesihotang* and its component groups on diabetes, free radical and antioxidative defense system in alloxan-induced diabetic rats. The experimental group was divided into three groups: *Daesihotang* (DS), *Soyangyak* (DS1), *Yangmyungyak* (DS2).

The results were obtained as follows:

The level of glucose, triglyceride, total cholesterol, creatinine in serum were considerably reduced by *Daesihotang*. And the level of HDL cholesterol, albumin, total protein in serum were increased by *Daesihotang* significantly. And the level of BUN has some decreased, but with no significancy.

In the study of *Daesihotang* on free radical scavenging effect *in vitro*, it has shown that *Daesihotang* and its components group have significant suppressing effect on peroxidation of linoleic acid on concentration. And in other experiments as scavenging

---

\* 동국대학교 한의과대학 방제학교실

effect of DPPH radical, inhibitory effect of superoxide in xanthine-xanthine oxidase system and inhibitory effect on lipid peroxidation reaction by hydroxy radical in  $H_2O_2-Fe^{2+}$  system, *Daesihatang* have some activity, but with no significancy.

In the study of *Daesihatang* on antioxidative defense system *in vivo*, the activity of GOT and GPT in serum were significantly increased; and the amounts of lipid peroxide in serum was reduced significantly but in liver no significancy. In hepatic catalase activity, *Daesihatang* has showed significant effect. In the level of hepatic glutathione, *Daesihatang* increased the amount of glutathione significantly. And in the activity of glutathione-s-transferase, *Daesihatang* has decreasing effect but has no significancy.

These result suggest that *Daesihatang* has strong effect on diabetes and it is useful to prevent diabetes, but has less effect on peroxidative damage by free radical.

key words : *Daesihatang*, diabetes, antioxidative

## I. 緒 論

大柴胡湯은 張仲景의 『傷寒論』<sup>1)</sup>에 처음으로 收錄된 이래 歷代 醫家들에 의해 주로 少陽陽明合病에 이용되어 온 處方으로서, 柴胡 黃芩 大黃 枳實 芍藥 半夏 生薑 大棗로 구성되어 있다. 方中の 柴胡 黃芩이 少陽經을 和解하고 大黃 枳實이 陽明經의 實熱을 瀉하여 주로 內瀉熱結 和解少陽의 效능을 나타낸다<sup>2-3)</sup>.

糖尿病은 insulin의 절대적 혹은 상대적 결핍으로 인하여 탄수화물의 대사 변조로 高血糖, 尿酸의 내부적 변화와 多飲 多食 多尿의 외부적 증상이 나타나는 代謝性症候群이다. 또한 지방 및 단백 대사의 저해로 인하여 급성감염, 폐결핵, 동맥죽상경화, 신과 망막 등 미세혈관병 및 신경병변이 나타나며, 위독한 경우 케톤산증중독, 당뇨병성 혼수 등이 발생된다. 최근에는 생활수준의 향상, 진단방법의 개선 및 수명의 연장 등으로 인하여 점차 증가하고 있는 추세이다<sup>4-8)</sup>.

糖尿病은 多飲 多食 多尿등과 같이 발현되는 症狀의 유사성 때문에 韓醫學에서는 消渴의 범주에 넣고 있다<sup>9-13)</sup>. 消渴의 주요 病機는

陰虛와 燥熱로써 그 治法은 주로 津液을 補充하는 滋陰과 燥熱을 제거하는 清熱로 이루어진다<sup>12)</sup>.

大柴胡湯은 清熱의 效능이 있어서 消渴의 치료에 사용되어 왔으며 근래에 들어 임상적으로는 黃疸 膽石症 膽囊炎 急性肝炎 慢性胃炎 痔疾 癩癧 腦出血 蕁麻疹 眼痛 齒痛 高血壓 急性脾臟炎 糖尿病 등의 病症에서 裏實證이 나타나는 경우에 활용하고 있다<sup>14-15)</sup>.

大柴胡湯에 대한 실험 연구로는 金<sup>16)</sup>이 사염화탄소에 의한 간손상 白鼠의 대사 회복에 미치는 영향을 보고하였으며 加藤<sup>17)</sup> 등은 柴胡가 함유된 大柴胡湯 小柴胡湯 柴胡桂枝湯 등의 方劑가 소화기계 평활근의 긴장을 이완시키는 鎮座作用이 있음을 보고하는 등 많은 실험 보고가 있었지만, 糖尿病에 미치는 실험 연구는 아직 보고된 바 없다.

이에 著者는 大柴胡湯이 糖尿에 미치는 영향, 자유기 소거에 미치는 영향 및 항산화 방어계에 미치는 영향을 알아보기 위하여, alloxan으로 유도된 白鼠에 alloxan을 注射하여 高血糖을 유발한 후 大柴胡湯 및 그 構成 藥物群을 투여하여 실험한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材 料

#### 1) 약 재

본 실험에 사용한 약재는 동국대학교 부속 한방병원에서 구입하였고, 실험에 사용한 大柴胡湯은 東醫寶鑑<sup>18)</sup>에 수록된 것으로 한 貼의 내용과 분량은 다음과 같다.

linoleic acid, xanthine, xanthine oxidase, butylated hydroxytoluene (BHT), tocopherol 등은 SIGMA사에서 구입하였으며, Hydrogen peroxide 및 n-butanol, ethanol, methanol, acetic acid와 기타 시약은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다. glucose, triglyceride, HDL-cholesterol, total cholesterol, albumin, total protein, creatinine, BUN, glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate

Contents of *Daesihotang*

韓藥名	Drug name	Amount
柴 胡	<i>BUPLEURI RADIX</i>	16 g
黃 芩	<i>SCUTELLARIAE RADIX</i>	10 g
大 黃	<i>RHEI RADIX ET RHIZOMA</i>	8 g
枳 實	<i>AURANTII IMMATURUS FRUCTUS</i>	6 g
半 夏	<i>PINELLIAE RHIZOMA</i>	4 g
芍 藥	<i>PAEONIAE RADIX ALBA</i>	10 g
生 薑	<i>ZINGIBERIS RHIZOMA RECENS</i>	4 g
大 棗	<i>JUJUBAE FRUCTUS</i>	2 g
Total amounts		60 g

#### 2) 동 물

실험동물은 체중 200g 내외의 건강한 Sprague-Dawley계 수컷 rat로 7일간 사육실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 20°C 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light-dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, rat용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

#### 3) 시 약

본 실험에 사용한 시약은 alloxan, 1,1-diphenyl-2-picryl- hydrazyl(DPPH), bovine serum albumine, 5,5'-dithio-bis- (2-nitrobenzoic acid)(DTNB), sodium dodecyl sulfate(SDS), thiobarbituric acid(TBA), sulfosalicylic acid, potassium phosphate, Malondialdehyde tetrabutylammonium salt,

pyruvate transaminase (GPT) 측정용 kit는 아산제약에서 구입하여 사용하였다.

실험에 사용한 기기는 UV-VIS spectro-photometer (UV- 2401PC SHIMADZU Co.)를 사용하였고, 그외 실험에 사용한 모든 시약들은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다.

### 2. 方 法

#### 1) 검액 조제 및 동물 시료 처치

##### (1) 검액의 조제

大柴胡湯 및 그 構成藥物群 各 20 貼 분량에 3배량의 80% methanol을 가한 다음 48 시간 동안 抽出하고, 이 과정을 2회 반복하여 여과한 후 농축하고 동결 건조하여 大柴胡湯 55.16g, 少陽藥群 46.64g, 陽明藥群 47.65g을 얻었다.

Contents of Experimental Groups	
實驗群	構成 藥物
大柴胡湯群 (DS group)	柴胡 16g 黃芩 10g 大黃 8g 枳實 6g 半夏 4g 芍藥 10g 生薑 4g 大棗 2g
少陽藥群 (DS1 group)	柴胡 16g 黃芩 10g
陽明藥群 (DS2 group)	大黃 8g 枳實 6g

### (2) 동물의 처치

실험동물은 각군당 8마리씩 9개의 군으로 나누었고, 모든 실험동물은 실험전 7일간 rat 용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

대조군(control group)은 alloxan 100 mg/kg/saline을 복강 주사한 후 고형사료와 물을 10일간 제한 없이 공급하였으며, 실험군은 處方群으로서 大柴胡湯(DS group), 構成藥物群으로서 少陽藥群(DS1 group), 陽明藥群(DS2 group)으로 나누었으며 모두 alloxan 100 mg/kg/saline을 1회 복강 주사한 후 rat 용 고형사료와 각 추출물들을 500 mg/kg/H<sub>2</sub>O의 농도로 10일간 음용시켰다.

모든 실험 동물은 생체시료 채취 전 18시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

### (3) 생체 시료의 제조

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복하여 심장에서 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 혈청을 분리하여 측정 효소원으로 사용하였다. 생리 식염수로 관류시킨 간은 조직이 손상되지 않도록 주의하여 혈액이 충분히 제거될 때까지 생리 식염수에 잘 씻어내고 Whatman 여과지로 식염수를 제거한 후 -70℃에 동결 보존하여 사용하였다. 효소 활성도 측정을 위해 전체 조직중 일부를 4배 용량의 50mM potassium phosphate buffer (pH

7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 4분간 균질화하였다. 이 균질액을 110×g에서 15분간 원심분리하여 상층액은 과산화지질 및 glutathione 함량을 측정하기 위한 시료로 사용하였고, 나머지 상층액은 600×g에서 15분간 원심분리하여 핵과 세포잔해를 제거한 상층액을 취한 후 다시 12,000×g에서 30분 동안 원심분리하여 미토콘드리아를 제거한 상층액을 catalase, glutathione-s- transferase 활성도를 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는 한 0~4℃에서 실시하였다(Scheme 1).

### 2) *in vivo*에서 각 추출물들의 당뇨 관련 지표 측정

#### (1) 혈청중 glucose 함량

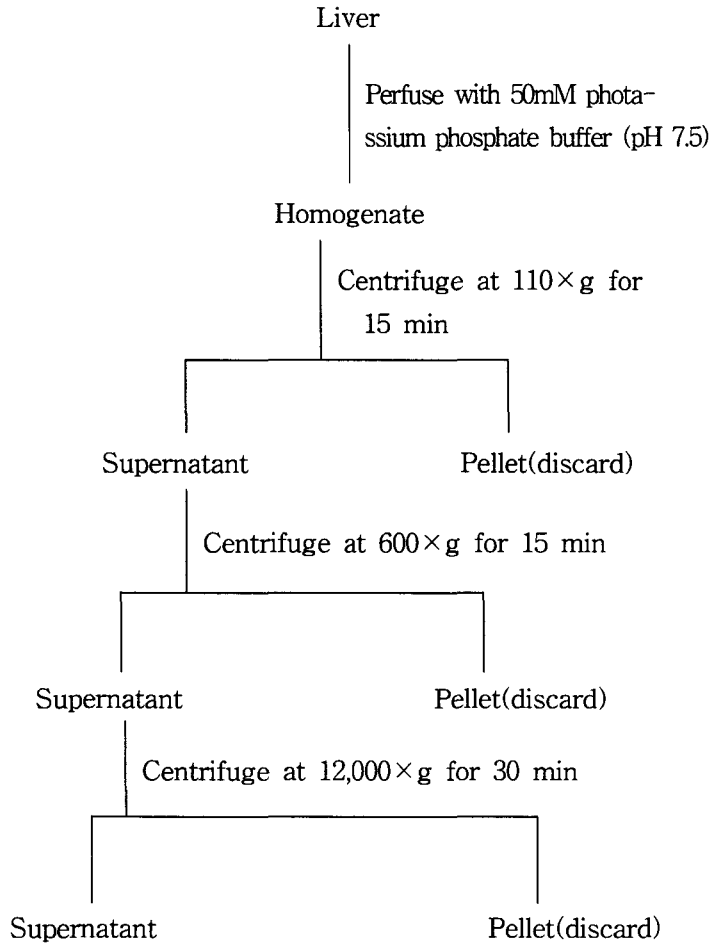
혈청중 glucose 함량은 효소법<sup>19)</sup>에 따라 조제된 시약 kit를 사용하였다. 혈청 0.02ml에 효소 시액 3.0ml을 넣고 잘 섞어준 후 37℃에서 5분간 방치 하여 시약블랭크를 대조로 파장 500nm에서 흡광도를 측정하였다. glucose량은 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

#### (2) 혈청중 triglyceride 함량

혈청중 triglyceride 함량은 효소법<sup>20-21)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.02ml에 효소 시액 3.0ml을 넣고 잘 섞어준 후 37℃에서 10분간 방치하여 시약블랭크를 대조로 파장 550nm에서 흡광도를 측정하였으며, triglyceride량은 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

#### (3) 혈청중 total cholesterol 함량

혈청중 total cholesterol 함량은 효소법<sup>22)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.02ml에 효소 시액 3.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 37℃에서 5분간 방치하여 파장 500nm에서 시약블랭



Scheme 1. Preparation of hepatic mitochondrial fractions for enzyme studies

크를 대조로 흡광도를 측정하고 total cholesterol 량은 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

대조로 흡광도를 측정하고 HDL cholesterol 량은 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

(4) 혈청중 HDL cholesterol 함량

혈청중 HDL cholesterol 함량은 효소법<sup>22)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.02 ml에 분리 시액 0.02ml 넣고 잘 섞어준 후 실온에서 10분간 방치하고 3000rpm에서 10분간 원심분리 하여 주었다. 상층액 0.1ml에 효소 시액 3.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 37℃에서 5분간 방치하여 파장 500nm에서 시약블랭크를

(5) 혈청중 total protein 함량

혈청중 total protein 함량은 Biuret법<sup>23)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.05ml에 정색시액 5.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 실온에서 30분간 방치하여 파장 540nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도를 측정하고 total protein량은 표준 검량 곡선에서 산출하여 혈청 dl당 g으로 나타내었다.

## (6) 혈청중 albumin 함량

혈청중 albumin 함량은 B.C.G법<sup>24)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.02ml에 정색 시액 5.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 실온에서 10분간 방치하여 파장 630nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도를 측정하고 albumin량은 표준 검량 곡선에서 산출하여 혈청 dl당 g으로 나타내었다.

## (7) 혈청중 creatinine 함량

혈청중 creatinine 함량은 Jaffe법<sup>25)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.5ml에 정색 시액 4.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 실온에서 20분간 방치하고 3000rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상청액 3.0ml에 0.4N NaOH 1ml을 넣고 20분간 실온에 방치 후 파장 520nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도를 측정하고 creatinine량은 표준 검량 곡선에서 산출하여 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

## (8) 혈청중 BUN 함량

혈청중 BUN 함량은 Urease-indophenol법<sup>26-27)</sup>에 따라 조제된 kit를 사용하였다. 혈청 0.02ml에 효소시액 2.0ml을 넣어 잘 섞어준 후 37°C에서 5분간 방치하고 정색시액 2.0ml을 넣어 다시 37°C에서 10분간 방치한 후 570nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도를 측정하고 BUN량은 표준 검량 곡선에서 산출하여 혈청 dl당 mg으로 나타내었다.

3) *in vitro*에서 각 추출물들의 자유기 소거능 측정

## (1) 지질자동산화계에서의 항산화능

Linoleic acid 유지 혼탁액은 Osawa 등의 방법<sup>28)</sup>에 따라 제조하였다. linoleic acid 0.13 ml, 99.0% ethanol 10ml, 50mM phosphate buffer(pH 7.0) 10ml을 혼합하고, 각 약재 추출물을 농도별로 첨가한 다음, 증류수로 total

volume이 25ml이 되도록 조절하였다. 이 혼합액을 test tube에 넣고, 40°C 배양기에서 배양하여 자동산화를 촉진시켰다.

TBA법에 의한 MDA 정량은 Ohkawa 등의 방법<sup>29)</sup>에 따라 실시하였다. 즉 40°C에서 배양시킨 linoleic acid 혼탁액 50 $\mu$ l에 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) 0.2ml, 20% acetic acid(pH 3.5, 10N NaOH) 1.5ml, 0.8% TBA 수용액 1.5 ml을 넣고, 증류수로 이 혼합액의 total volume을 4ml로 조절한 다음, 5°C에서 60분간 방치하고, 다시 95°C에서 60분간 발색시킨 뒤, 흐르는 수돗물에서 냉각시켜 사용하여 532nm에서 흡광도를 측정하였다. 그리고 과산화지질의 함량은 MDA로 표준 검량곡선을 작성한 다음, 이에 의거한 측정치를 MDA  $\mu$ M로 표기하였다.

## (2) DPPH radical 소거능

약재 추출물의 free radical에 대한 소거효과를 알아보기 위해 Hatano등의 방법<sup>30)</sup>에 따라 DPPH radical 소거효과를 측정하였다. 각 추출물을 증류수에 농도별로 녹인 후 이 혼합물 4ml과  $1.5 \times 10^{-4}$ M DPPH/MeOH 1ml을 혼합하여 잘 흔들어 주고 실온에서 30분동안 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

## (3) Xanthine-xanthine oxidase계에서 superoxide의 생성 억제능

Xanthine-xanthine oxidase계에서 생성되는 superoxide에 대한 각 추출물의 억제효과를 측정하기 위하여 다음과 같은 반응용액을 조제하였다. 먼저 250  $\mu$ M xanthine 0.5ml과 농도별 추출액 0.1ml 및 50mM sodium phosphate buffer(pH 7.0) 1.3ml을 함유하는 반응용액을 실온에서 3분간 정치한 다음, 0.1unit xanthine oxidase를 첨가하여, 반응용액의 총량을 2ml로 조절한 후, 290nm에서 1분간 흡광도의 변화를 측정하였다.

(4) Hydroxy radical에 의한 지질과산화 반응 억제능

최종농도가 7.5mg/ml 인 흰쥐의 간조직 균질액, 1mM FeCl<sub>2</sub>, 3mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 농도별 추출물이 첨가된 0.1M sodium phosphate buffer(pH 7.4)의 반응용액을 1ml 로 하여 37°C에서 10분간 반응시킨 다음, TBA법으로 과산화지질의 함량을 측정하였다.

4) *in vivo*에서 각 추출물들의 항산화 효과 측정

(1) 혈청중 GOT 및 GPT 활성

혈청중 GOT 및 GPT 활성 측정은 Reitman-Frankel의 방법<sup>31)</sup>에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. GOT, GPT 기질액 1.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2ml을 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0ml을 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4N NaOH 용액 10ml을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505nm에서 증류수를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 GOT, GPT의 활성도는 작성한 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1ml당 karmen unit로 나타내었다.

(2) 혈청중 lipid peroxide 함량

TBA측정은 Suematsu등의 방법<sup>32)</sup>에 따라 clean test tube에 혈청 200 $\mu$ l를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate(SDS) solution 225 $\mu$ l, 20% acetic acid 1.5ml, 증류수 75 $\mu$ l, 1.2% thiobarbituric acid solution 1ml을 넣고 잘 섞어준 후 30분간 water bath에서 끓였다. 이후 실온에서 30분간 cooling하고 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 532nm에서 측정하였다.

(3) 간에서의 lipid peroxide 함량

조직내 LPO함량 측정은 Ohkawa등의 방법<sup>29)</sup>에 따랐다. 조직 마쇄 균질액을 1,000 $\times$ g에서 원심분리한 후 상층액을 취해 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95°C에서 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 malondialdehyde(MDA) 농도는 free MDA로 표준선을 구하여 계산하였으며 MDA함량은 조직 mg당 nmoles로 나타내었다.

(4) 간에서의 catalase 활성

조직내 catalase 활성도는 Aebi의 방법<sup>33)</sup>에 따라 측정하였다. 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액을 가하여 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 10mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액 대신에 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)을 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 1 $\mu$ M의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(5) 간에서의 glutathione 함량

조직내 GSH 함량 측정은 Ellman등의 방법<sup>34)</sup>에 따랐다. 조직 균질액을 1,000 $\times$ g에서 원심분리한 후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 1000 $\times$ g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 1mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 412nm에서 흡광도를 측정하였으며 GSH 함량은 protein 1mg 당 nmoles 로 나타내었다.

(6) 간에서의 glutathione-s-transferase 활성 간 조직내 GST 활성은 chlorodinitrobenzene(CDNB)과 GSH를 기질로 사용한 Habig의 방법<sup>35)</sup>으로 측정하였다. 0.1M potassium phosphate 완충용액(pH 6.5)으로 희석시킨 간 부유액에 1mM GSH, 1mM CDNB를 첨가하여 파장 340nm에서 단백질 mg당 1분간 conjugated되는 CDNB의 nmole로 표기하였다.

(7) 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry등의 방법<sup>36-37)</sup>에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질을 정량하였다.

3. 통계처리

실험결과는 평균과 표준 편차로 표현하고

유의성 검증은 Sigma Plot (Window용 version 5.0)을 이용하여 unpaired t-test를 실시하였다.

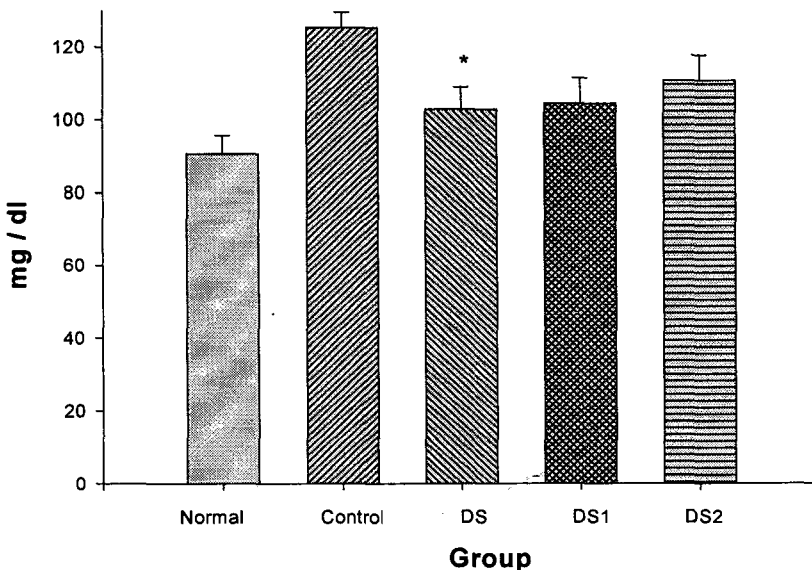
Ⅲ. 實驗 成績

1. *in vivo*에서 각 추출물들의 당뇨 관련 지표

1) 혈청중 glucose 함량에 미치는 영향

흰쥐의 혈청중 glucose 함량 측정 결과, 정상군에서는 90.66±4.95 mg/dl인데 비하여 대조군은 125.26±4.15 mg/dl으로 약 1.5배 증가하였으며 약물투여군은 모두 glucose 함량이 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은 102.83±6.16 mg/dl으로 대조군에 비하여 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다(Fig. 1).

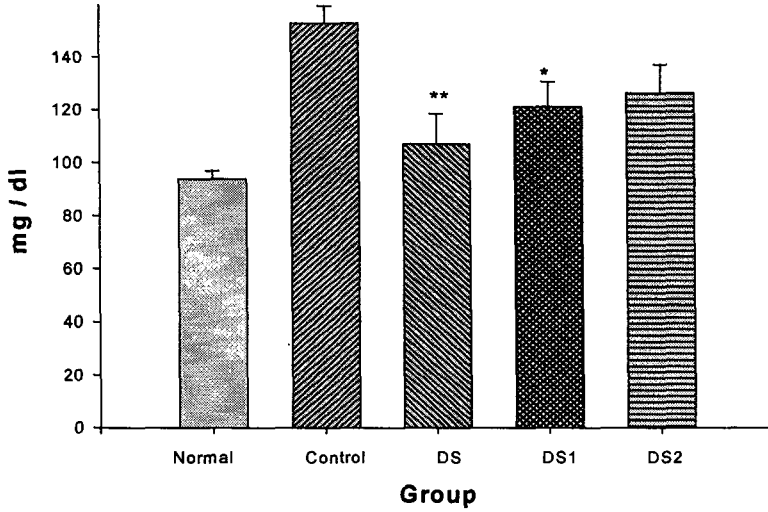
Fig. 1. Effects of the *Daesihotang* extract on the activity of serum glucose in alloxan-treated rat.



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



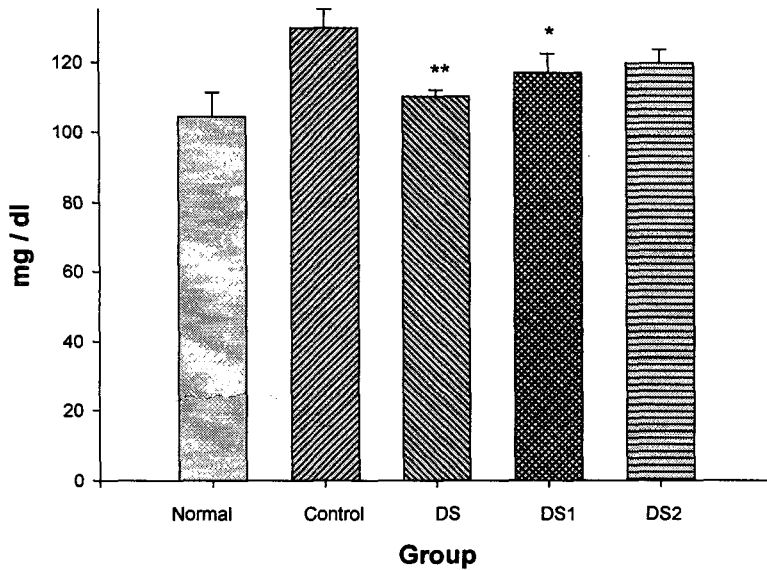
Fig. 2. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum triglyceride in alloxan-treated rat.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

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

Fig. 3. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum total cholesterol in alloxan-treated rat.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

## 2) 혈청중 triglyceride 함량에 미치는 영향

혈청중 triglyceride 함량 측정 결과, 정상군은  $93.70 \pm 3.00$  mg/dl인데 비하여 대조군은  $152.53 \pm 6.58$  mg/dl로 약 1.5배 증가하였으며 약물투여군은 모두 혈청중 triglyceride 함량이 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은  $106.85 \pm 11.62$  mg/dl로 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 감소하였다. 少陽藥群도  $120.97 \pm 9.59$  mg/dl로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였으나, 陽明藥群은 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 2).

## 3) 혈청중 total cholesterol 함량에 미치는 영향

혈청중 total cholesterol 함량 측정 결과, 정상군은  $104.57 \pm 6.89$  mg/dl 인데 비하여 대조군은  $129.73 \pm 5.32$  mg/dl로 다소 증가하였으며 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은  $110.39 \pm 1.72$  mg/dl로 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 감소하였다. 少陽藥群은  $116.99 \pm 5.49$  mg/dl로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였으나 陽明藥群은 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 3).

## 4) 혈청중 HDL cholesterol 함량에 미치는 영향

혈청중 HDL cholesterol 함량 측정 결과, 정상군은  $45.61 \pm 0.89$  mg/dl 인데 비하여 대조군은  $40.18 \pm 1.04$  mg/dl로 다소 감소하였으며 실험군의 혈청중 HDL cholesterol 함량은 모두 대조군에 비하여 증가하였다. 大柴胡湯群은  $44.42 \pm 1.02$  mg/dl로 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였으나, 다른 실험군들은 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 4).

## 5) 혈청중 total protein 함량에 미치는 영향

혈청중 total protein 함량 측정 결과, 정상

군에서는  $7.30 \pm 0.33$  g/dl인데 비하여 대조군은  $6.15 \pm 0.31$  g/dl로 다소 감소하였으며 실험군은 모두 대조군에 비하여 증가하였다. 大柴胡湯群은  $7.05 \pm 0.10$  g/dl로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였으며, 다른 실험군에서는 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 5).

## 6) 혈청중 albumin 함량에 미치는 영향

혈청중 albumin 함량 측정 결과, 정상군에서는  $4.27 \pm 0.12$  g/dl인데 비하여 대조군은  $3.49 \pm 0.31$  g/dl로 다소 감소하였으며 실험군은 모두 대조군에 비하여 증가하였다. 특히 大柴胡湯群은  $4.10 \pm 0.10$  g/dl로 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였다. 少陽藥群도  $3.90 \pm 0.13$  g/dl로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였으나 陽明藥群은 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 6).

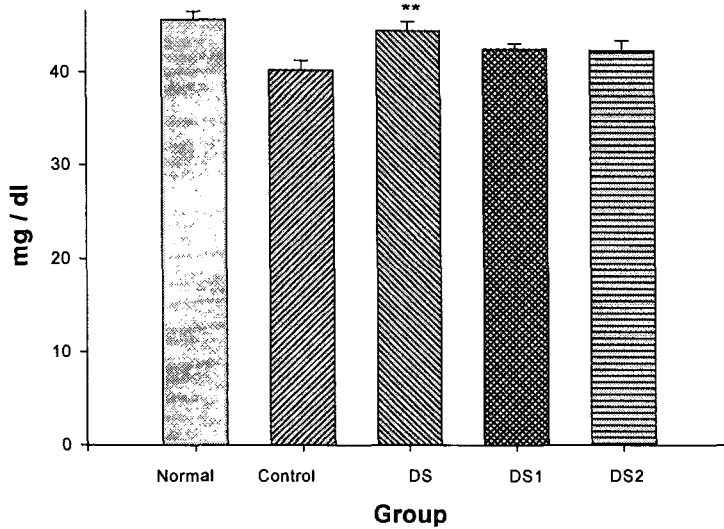
## 7) 혈청중 creatinine 함량에 미치는 영향

흰쥐의 혈청중 creatinine 함량 측정 결과, 정상군에서는  $1.31 \pm 0.04$  mg/dl인데 비하여 대조군은  $1.59 \pm 0.06$  mg/dl로 다소 증가하였으며 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은  $1.42 \pm 0.03$  mg/dl로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였으나, 다른 실험군에서는 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 7).

## 8) 혈청중 BUN 함량에 미치는 영향

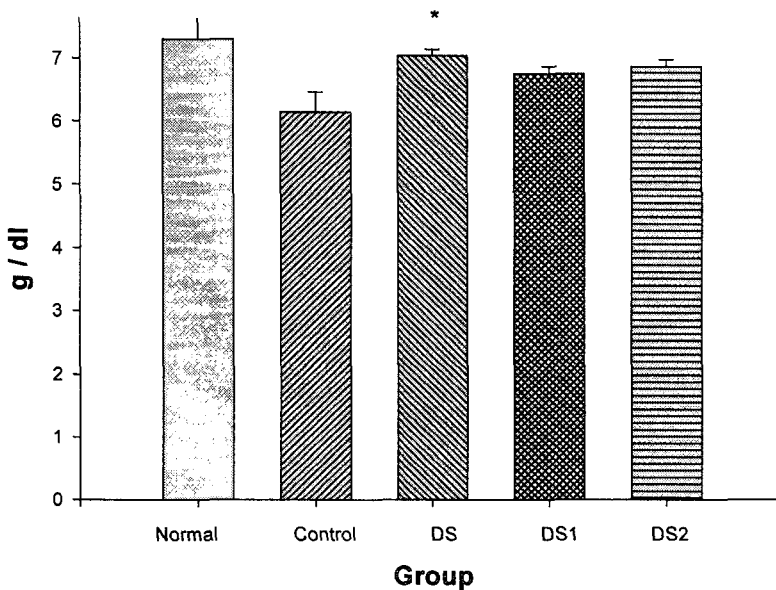
혈청중 BUN 함량 측정 결과, 정상군에서는  $17.21 \pm 1.84$  mg/dl인데 비하여 대조군은  $34.98 \pm 3.24$  mg/dl로 약 2배 증가하였으며 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였다. 大柴胡湯群은  $26.86 \pm 1.58$ , 少陽藥群은  $28.10 \pm 1.55$ , 陽明藥群은  $29.23 \pm 1.48$  mg/dl로 모두 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 8).

Fig. 4. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum HDL-cholesterol in alloxan-treated rat.



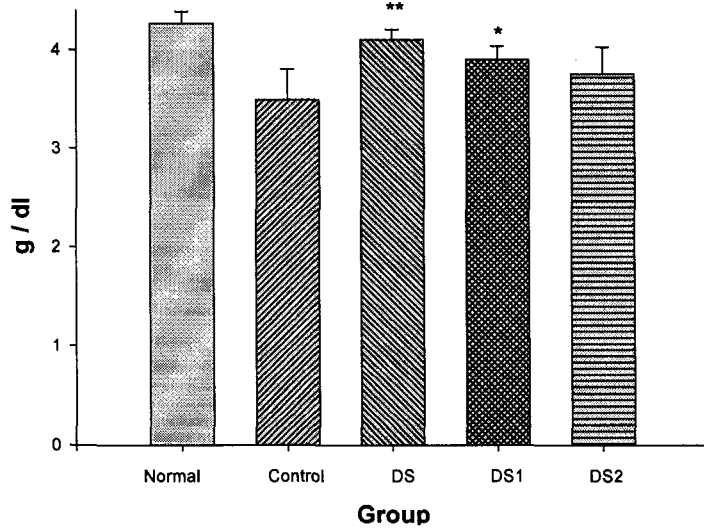
\*\* : P <0.01 as compared with control group.

Fig. 5. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum Total protein in alloxan-treated rat.



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

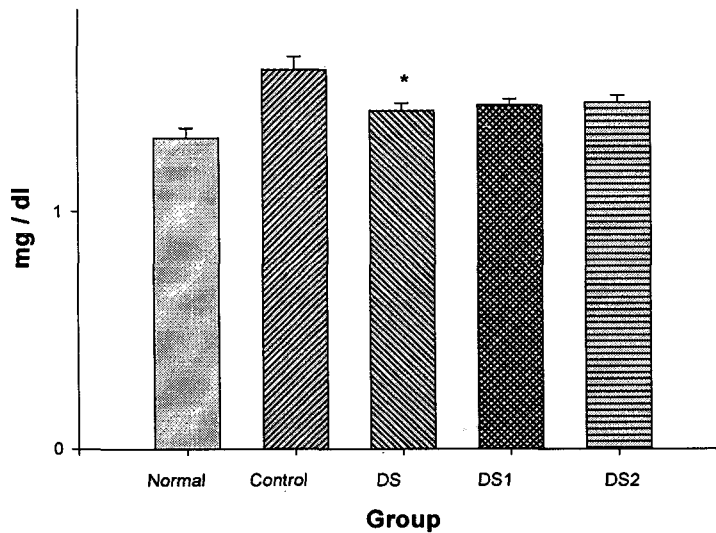
Fig. 6. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum albumin in alloxan-treated rat.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

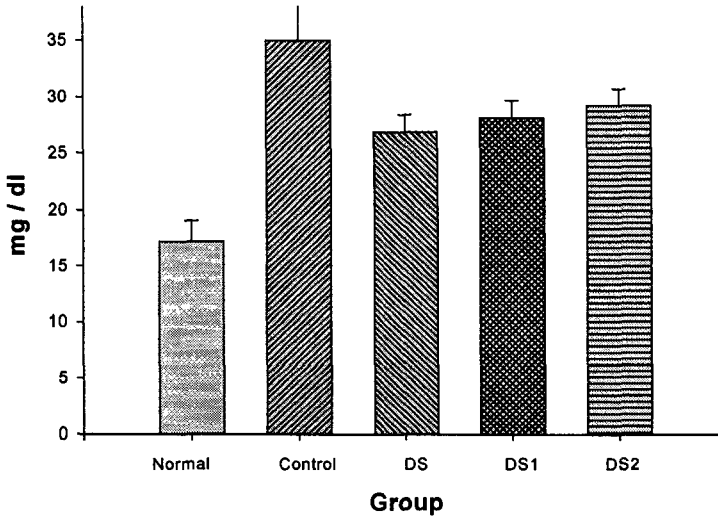
\* : P <0.05 as compared with control group.

Fig. 7. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum creatinine in alloxan-treated rat.



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

Fig. 8. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum BUN in alloxan-treated rat.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

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

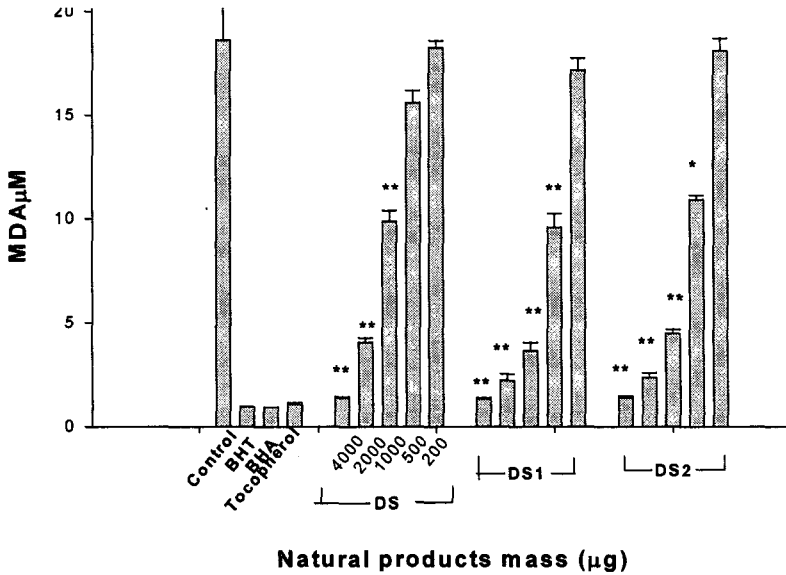
## 2. *in vitro*에서 각 추출물들의 자유기 소거 효과

### 1) 지질자동산화계에서의 항산화 효과

불포화지방산의 일종인 linoleic acid의 자동산화계를 이용하여 농도별 추출물들의 지질과산화물 생성 억제 효과를 배양 시간별로 관찰하였다. 그 결과, 아무런 처치도 하지 않은 대조군에서의 지질과산화물의 함량은 시간이 경과함에 따라 점점 증가하여 배양 10일째에는  $18.6 \pm 11.54 \mu\text{M}$ 로 현저한 증가를 보였다. 항산화제인 BHT, BHA 및 tocopherol을 첨가한 실험군에서는 배양 10일째에 각각  $0.97 \pm 0.02$ ,  $0.95 \pm 0.01$ ,  $1.11 \pm 0.07 \mu\text{M}$ 로 대조군에 비해 지질과산화물의 생성이 현저하게 억제되었다.

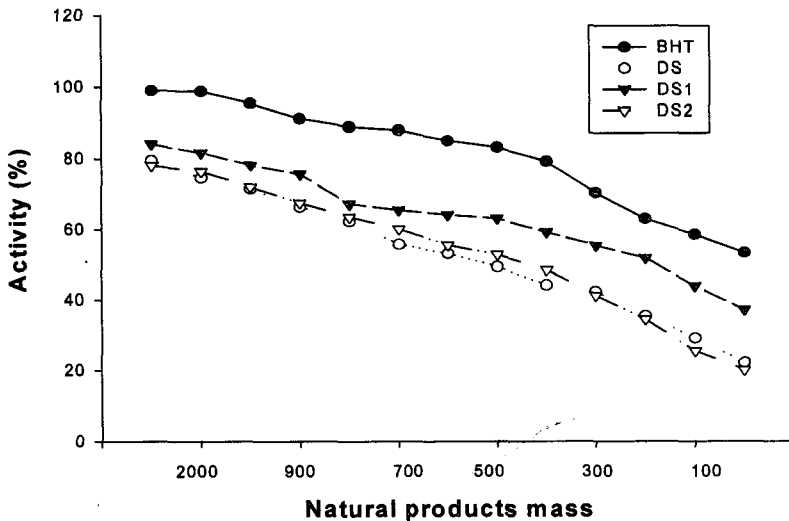
이에 비하여 약물투여군에서는 전반적으로 농도가 높아질수록 억제 효과가 현저하게 나타났다. 大柴胡湯群은 배양 10일째 추출물의 농도가  $1000 \sim 4000 \mu\text{g}$ 일 때 매우 유의성 ( $p < 0.01$ ) 있게 억제되었으며, 少陽藥群은  $500 \sim 4000 \mu\text{g}$ 일 때 매우 유의성 ( $p < 0.01$ ) 있게 억제되었으며, 陽明藥群은  $500 \mu\text{g}$ 일 때 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있게 억제되었으며, 또한  $1000 \sim 4000 \mu\text{g}$ 에서는 매우 유의성 ( $p < 0.01$ ) 있게 억제되었다(Fig. 9).

Fig. 9. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract in linoleic acid system were measured by the TBA method on antioxidative activity after 10 days. Each values are the mean of triplicate experiments.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.  
 \* : P <0.05 as compared with control group.

Fig. 10. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on DPPH radical scavenging activity were determined according to the method of Hatano. Each values are the mean of triplicate experiments.



\* Radical Scavenging Activity(%) = [(control O.D. - Experimental O.D.)/Control O.D.]×100

2) DPPH radical 소거 효과

각 추출물들의 농도별 희석액에 대한 DPPH radical 소거효과를 관찰한 결과 대부분의 농도에서 농도 의존적인 radical 소거효과가 나타났으며, 특히 少陽藥群 추출물이 84.15%로 다른 추출물들에 비해 효과적인 소거 효과가 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 10).

3) Xanthine-xanthine oxidase계에서 superoxide의 생성 억제 효과

각 추출물들의 농도별 희석액에 대한 superoxide의 생성 억제효과를 관찰한 결과 각 추출물에서 농도 의존적인 superoxide의 생성 억제효과를 보였다. 추출물 질량 1000 $\mu$ g 일 때 大柴胡湯群이 39.85%, 少陽藥群이 47.96%, 陽明藥群이 42.35%로 少陽藥群이 다른 경우보다 나은 효과를 관찰할 수 있었다(Fig. 11).

4) Hydroxy radical에 의한 지질과산화 반응 억제 효과

Hydroxy radical에 대한 억제 효과를 관찰해 본 결과, 대조군에서의 과산화지질의 함량은 32.61  $\mu$ M이었으나, 항산화제인 BHT를 첨가한 실험군에서는 2.04  $\mu$ M로 나타나 대조군에 비해 약 94%의 억제 효과를 보였다. 약물투여군에 있어서 각각의 추출물들은 농도 의존적인 억제 효과를 나타내었다. 추출물의 양이 1000 $\mu$ g일 때, 대조군에 비하여 88.19%, 大柴胡湯群은 少陽藥群은 93.22%, 陽明藥群은 90.68%로 少陽藥群이 추출물 중 가장 나은 지질과산화물 생성 억제 효과가 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 12).

3. *in vivo*에서 각 추출물들의 항산화 효과

1) 혈청중 GOT 활성에 미치는 영향

혈청중 GOT 활성은 정상군이 41.91 $\pm$ 4.11 karmen unit인데 비하여 대조군은 102.79 $\pm$ 4.36 karmen unit 로 약 2배 이상 증가하였으며 세가지 약군 모두 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은 74.53 $\pm$ 4.91 karmen unit, 少陽藥群은 73.65 $\pm$ 3.82 karmen unit로 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다.(Fig. 13)

2) 혈청중 GPT 활성에 미치는 영향

혈청중 GPT 활성은 정상군이 18.59 $\pm$ 2.61 karmen unit인데 비하여 대조군은 27.38 $\pm$ 2.36 karmen unit로 약 1.5배 증가하였으며 大柴胡湯群은 20.31 $\pm$ 1.16 karmen unit/ml of serum으로 매우 유의성(p<0.01) 있게 감소하였으며, 少陽藥群과 陽明藥群은 20.74 $\pm$ 0.80, 21.28 $\pm$ 1.52 karmen unit/ml of serum으로 모두 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다(Fig. 14).

3) 혈청중 lipid peroxide 함량에 미치는 영향

혈청에서의 정상군의 MDA 함량은 2.82 $\pm$ 0.38 MDA nmole / ml of serum 인데 비해 대조군은 5.52 $\pm$ 0.40 MDA nmole / ml of serum 으로 정상군에 비해 약 2배 증가하였다. 약물투여군은 대조군에 비해 양호하게 감소하였음을 알 수 있었는데, 약물투여군 중 大柴胡湯群은 4.14 $\pm$ 0.25 MDA nmole / ml of serum, 少陽藥群은 3.98 $\pm$ 0.13 MDA nmole / ml of serum으로 유의성(p<0.05) 있게 감소하였으며, 陽明藥群은 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 15).

Fig. 11. Inhibitory effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on superoxide generation induced by xanthine-xanthine oxidase system. Each values are the mean of triplicate experiments.

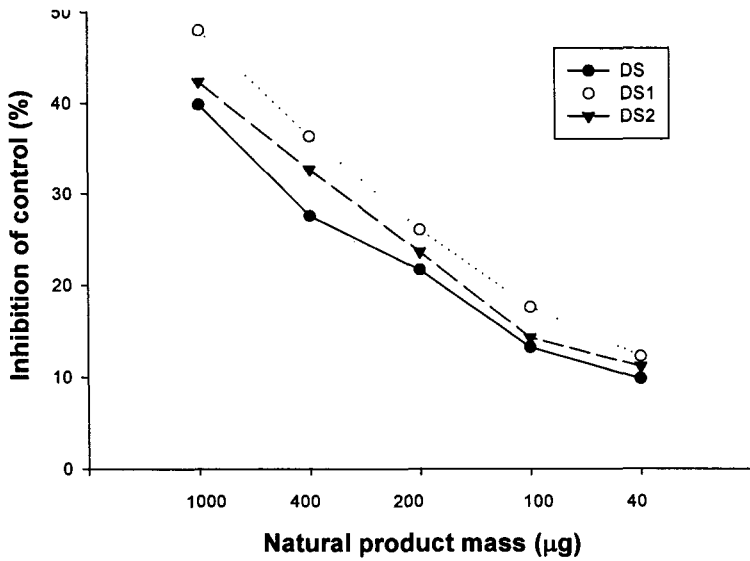


Fig 12. Effect of *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on  $H_2O_2-Fe^{2+}$  system induced lipid peroxidation. Each values are the mean of triplicate experiments.

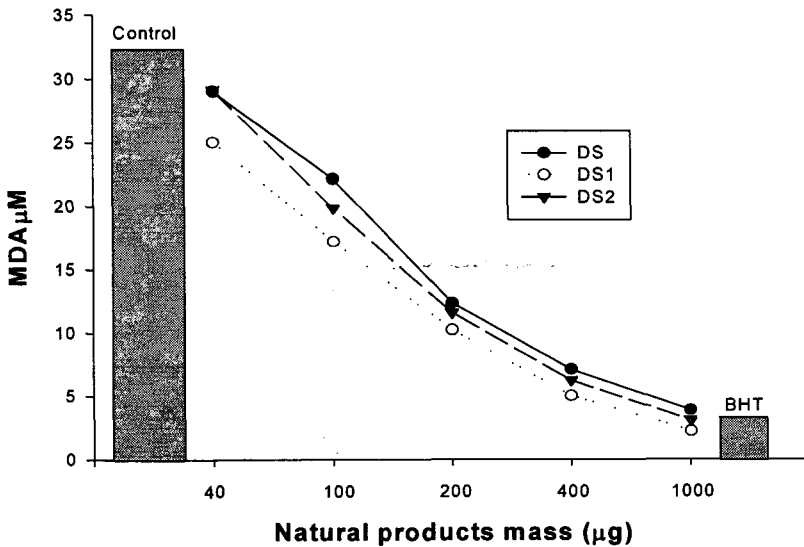
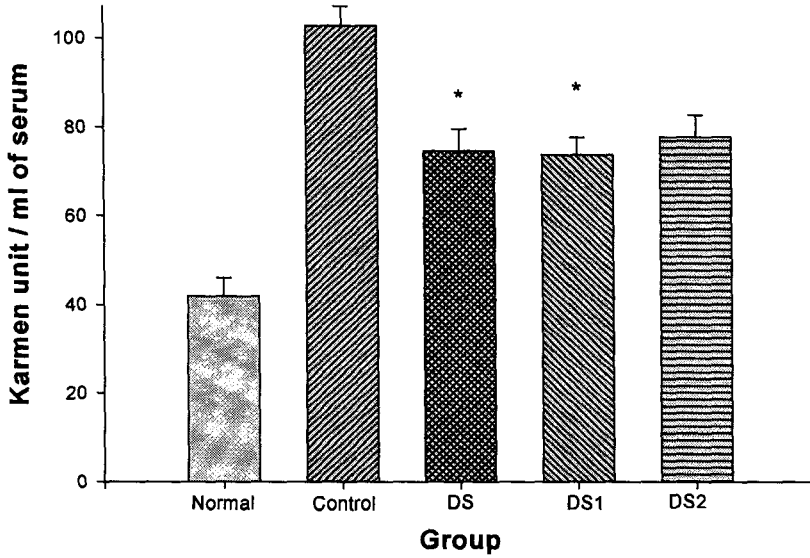


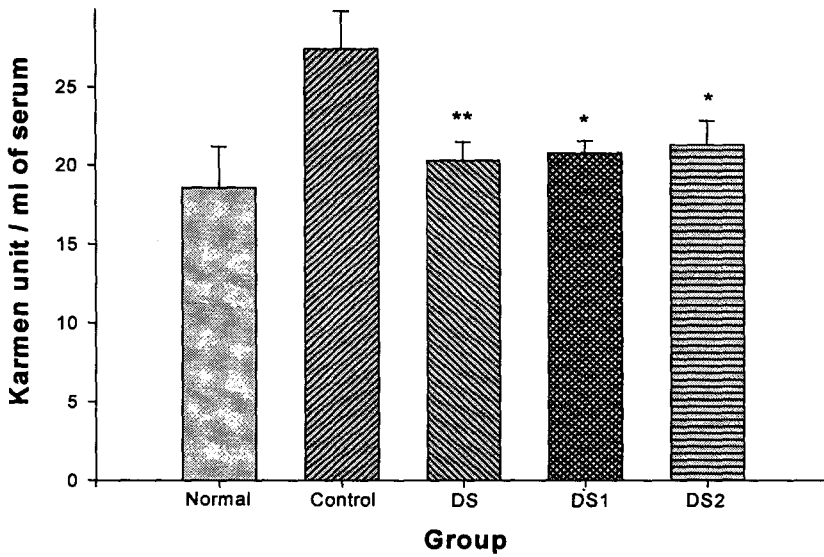


Fig. 13. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum GOT in alloxan-treated rat.



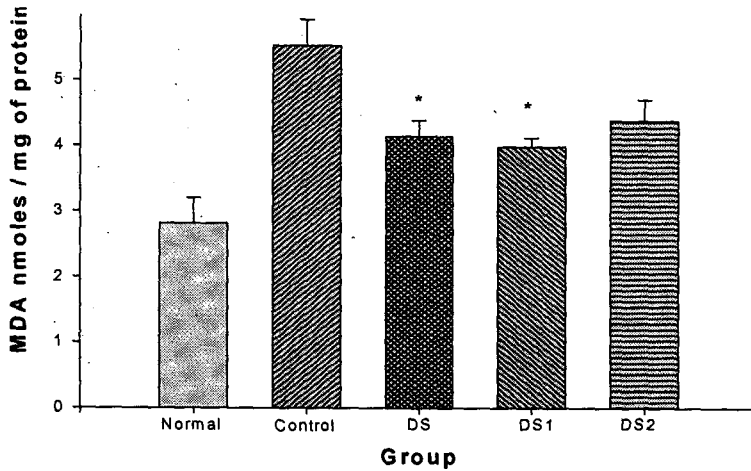
\* : P <0.05 as compared with control group.

Fig. 14. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1), *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the activity of serum GPT in alloxan-treated rat.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

Fig. 15. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1) and *yangmyung-yak* group(DS2)extract on the level of serum lipid peroxide in alloxan-treated rat measured by TBA method. Each group was injected alloxan and fed the natural product for 10 days. Each values are the mean  $\pm$  S.E. \* : P <0.05 as compared with control group.



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

Fig. 16. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1) and *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the level of serum lipid peroxide in alloxan-treated rat measured by TBA method. Each group was injected alloxan and fed the natural product for 10 days. Each values are the mean  $\pm$  S.E.

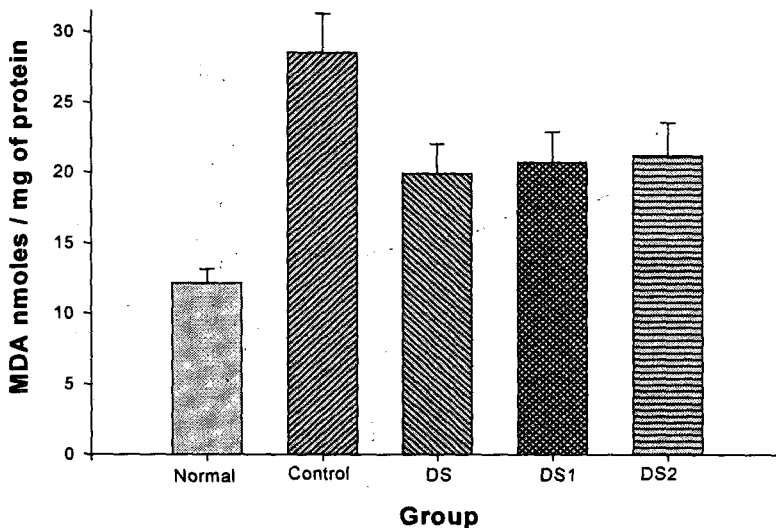
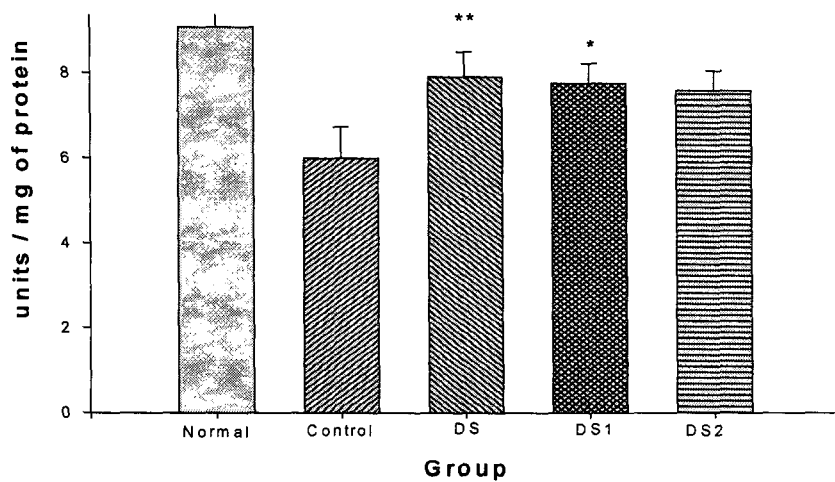


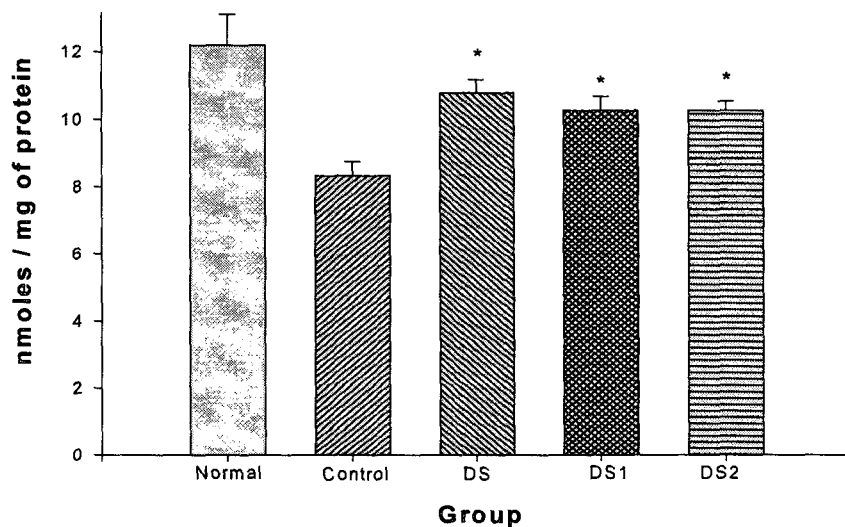
Fig. 17. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1) and *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the level of hepatic catalase in alloxan-treated rat. Each group was injected alloxan and fed the natural product for 10 days. Each values are the mean  $\pm$  S.E.



\*\* : P <0.01 as compared with control group.

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

Fig. 18. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1) and *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the level of hepatic glutathione in alloxan-treated rat. Each group was injected alloxan and fed the natural product for 10 days. Each values are the mean  $\pm$  S.E.



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

#### 4) 간에서의 lipid peroxide 함량에 미치는 영향

간에서의 정상군의 과산화지질 함량은  $12.19 \pm 0.96$  MDA nmole / mg of protein 인데 비해 대조군은  $28.57 \pm 2.76$  MDA nmole / mg of protein 으로 약 2배 이상 증가하였다.

약물 투여군에서 大柴胡湯群은  $19.96 \pm 2.13$ , 少陽藥群은  $20.76 \pm 2.19$ , 陽明藥群은  $21.28 \pm 2.37$  MDA nmole / mg of protein 으로 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 16).

#### 5) 간에서의 catalase 활성에 미치는 영향

간에서의 정상군의 catalase 활성은  $9.07 \pm 0.30$  units / mg of protein 인데 비해 대조군은  $5.99 \pm 0.74$  unit / mg of protein 으로 활성이 감소하였다.

약물 투여군은 모두 대조군에 비해 활성이 증가함을 알 수 있었으며 그 중 大柴胡湯群은  $7.80 \pm 0.60$  units/mg of protein 으로 대조군에 비해 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였으며, 少陽藥群은 또한  $7.74 \pm 0.47$  units/mg of protein으로 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였다(Fig. 17).

#### 6) 간에서의 glutathione 함량에 미치는 영향

간에서의 정상군의 GSH 함량은  $12.20 \pm 0.91$  nmole/mg of protein 인데 비해 대조군은  $8.32 \pm 0.44$  nmole / mg of protein 로 감소하였다.

약물 투여군은 모두 대조군에 비해 증가하였으며 大柴胡湯群은  $10.78 \pm 0.39$ , 少陽藥群은  $10.26 \pm 0.42$ , 陽明藥群은  $10.27 \pm 0.27$  nmole / mg of protein으로 대조군에 비해 모두 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였다(Fig. 18).

#### 7) 간에서의 glutathione-s-transferase 활성에 미치는 영향

간에서의 정상군의 glutathione-s-transferase 함량은  $2.11 \pm 0.29$  nmole / mg of protein 인데 비해 대조군은  $3.10 \pm 0.16$  nmole / mg of protein 로 증가하였으나 약물 투여군에서는 모두 대조군에 비해 감소하였다. 大柴胡湯群은  $2.68 \pm 0.15$ , 少陽藥群은  $2.76 \pm 0.09$ , 陽明藥群은  $2.73 \pm 0.13$  nmole / mg of protein 으로 大柴胡湯群이 가장 현저하게 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다(Fig. 19).

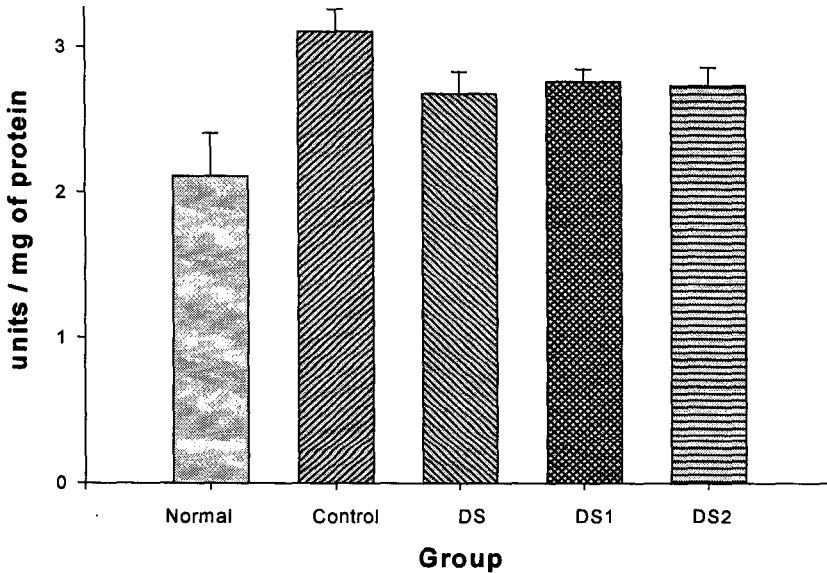
## IV. 考 察

大柴胡湯은 張仲景의 『傷寒論』<sup>1)</sup>에 “傷寒發熱 汗出不解 心中痞硬 嘔吐而下利者 大柴胡湯主之”, “傷寒十餘日 熱結在裏 復往來寒熱者 與大柴胡湯”, “太陽病 過經十餘日 反二三日下之後 四五日柴胡證仍在者 先與大柴胡湯 嘔不止 心下急 鬱鬱微煩者 爲未解也 與大柴胡湯下之則愈”라 하였으며, 『金匱要略』<sup>38)</sup>에서 “按之心下滿痛者 此爲實也 當下之 宜大柴胡湯主之”라 기록된 이후 歷代 醫家들에 의해 주로 少陽陽明合病에 이용되어 온 處方이다.

方中の 君藥은 柴胡 黃芩으로, 表證이 解消되지 않았으므로 柴胡가 疏肝解表하고, 이미 裏에 燥實證이 형성되었으므로 黃芩이 裏熱을 淸熱한다. 陽明腑에 熱邪가 鬱結되어 있으므로 臣藥인 大黃 枳實이 熱結裏實을 攻下한다. 胸脇苦滿 心下滿痛이 있으므로 芍藥이 肝血을 補하여 緩急止痛하고 嘔吐가 不止하므로 生薑과 半夏를 배오하여 溫胃和胃 降逆止嘔하니 이들은 佐藥이다. 生薑과 大棗는 健脾益胃하여 營衛를 調和하고 大棗는 諸藥을 調和하여 使藥이다. 이러한 大柴胡湯의 配伍로 인하여 少陽經의 邪氣를 除去하고 內部로는 熱結을 瀉한다.<sup>3,39)</sup>

糖尿病은 insulin의 결핍 및 조직에서의

Fig. 19. Effect of the *Daesihotang* group(DS), *soyang-yak* group(DS1) and *yangmyung-yak* group(DS2) extract on the level of hepatic glutathione-S-transferase in alloxan-treated rat. Each group was injected alloxan and fed the natural product for 10 days. Each values are the mean±S.E.



insulin 작용 저하로 인한 高血糖 및 이에 관련된 대사 장애를 특징으로 하는 대사성 만성 소모성 질환군으로 多飲·多食·多尿·體重減少·全身衰弱·疲勞 등의 증상을 수반한다<sup>40-44</sup>. Insulin은 췌장 Langerhans's islet에 있는 β-cell에서 분비되는 hormone으로 포도당을 포함한 탄수화물의 대사 뿐만 아니라 지방과 단백질의 대사에도 깊이 관여하여 신체의 전반적인 fuel metabolism을 조절한다<sup>43</sup>.

탄수화물 대사의 기본 물질인 glucose는 인슐린 분비를 자극할 수 있는 가장 중요한 생리적 요소이며 glucose의 대사에는 초기반응 효소에 해당하는 glucose 인산화 효소가 필요하다. 간과 췌장 島細胞의 해당과정중의 핵심 조절 효소<sup>45-46</sup>인 glucokinase는 glucose를 glucose-6-phosphate (G-6-P)로 인산화시켜 glycogen을 합성시킴으로서 肝에서의 포도당 합성에 관계한다<sup>47-48</sup>. 또한 肝臟의 glucokinase는 insulin에 의해 활성도가 좌우되며, 脾臟의

glucokinase는 혈당에 의해 효소활성이 변화하여 glucokinase는 당대사와 인슐린 분비 조절인자라 할 수 있다<sup>49</sup>. 한편 alloxan에 의해 유발된 당뇨병 동물모델에서는 이러한 glucokinase의 불활성화가 glucose를 초기에 인산화시키지 못하므로 당뇨병을 유발한다고 보고되어 있다<sup>50</sup>.

糖尿病은 東洋醫學에서 消渴의 범주에 속하는데<sup>51-52</sup>, 消渴에 관한 기록은 『黃帝內經』<sup>53</sup>의 消癰, 消渴로 기록된 이후 劉 등<sup>54-58</sup>에 의해 다양한 名稱으로 표현되고 있으나 許 등<sup>18,60-66</sup>의 醫家들은 증상의 偏重, 發顯하는 部位와 症狀에 따라 上消 中消 下消의 三消로 구분하고 있으며, 糖尿病은 이중에서 中消와 가장 유사한 病證이라고 볼 수 있다<sup>42</sup>.

消渴의 원인은 飲食不絶 勞慾過度 情志失調 大病後氣血虛損 先天稟賦不足 및 金石丹藥濫用등의 誘因으로 火炎上薰 臟腑熱熾하여 津液이 枯渴되어 誘發되는 것으로<sup>56-58,61,67-68</sup>

이는 西洋醫學에서 糖尿病의 유발 원인인 遺傳, 스트레스, 飮食, 藥物 및 肥滿 등과 유사하다<sup>69-70</sup>. 消渴의 病機는 陰虛와 燥熱로써<sup>12</sup>, 治法으로는 醫家들의 견해에 따라 다소 相異하나 크게 津液을 補充하는 滋陰과 燥熱을 제거하는 淸熱로 귀결된다.

大柴胡湯은 淸熱의 效能을 가지고 있어 歷代로 消渴의 치료에도 응용되어 왔으므로 糖尿病에 대한 치료 효과도 기대할 수 있다. 따라서 본 연구에서 大柴胡湯의 糖尿에 미치는 영향과 자유기 소거 효과에 미치는 영향 및 항산화 방어제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 alloxan으로 유도된 高血糖 白鼠에 大柴胡湯 및 그 構成藥物群을 투여하여 실험한 결과 有意한 所見을 얻었다.

*in vivo*에서 白鼠에 alloxan을 투여하면 glucokinase의 불활성화로 인하여 당대사와 인슐린 분비 조절에 이상을 초래하여 糖尿를 유발하고 이는 곧 탄수화물의 대사 뿐만 아니라 지방과 단백질의 대사에도 변화를 초래하므로<sup>43,49-50</sup>, 탄수화물 대사의 기본 물질인 glucose의 함량, 지방 대사와 관련된 triglyceride · HDL cholesterol · total cholesterol 함량, 단백질 대사와 관련된 albumin · total protein 및 신장기능과 관련된 creatinine · BUN 함량 등을 측정하였다.

glucose 함량은 당뇨병을 진단하는 중요한 지표가 되는데, 진성당뇨병 · 내분비질환 · 고지질혈증 · 임신당뇨병 · 뇌종양 · 뇌혈관장애 · 뇌외상 · 뇌막염 · 당질과잉섭취 · 지속된 기아상태 · 임신중독증 · 만성간질환 · 만성 신질환 · 갑상선기능항진 · 쿠싱증후군 · 부신 피질종양 · 고혈압증 · 협심증 등과 같은 질환에서 혈당량의 증가가 나타난다<sup>71-72</sup>. 흰쥐의 혈청중 glucose 함량 측정 결과, 정상군에 비하여 대조군은 약 1.5배 증가하였으며, 약물투여군에서는 모두 대조군에 비하여 glucose 함량이 감소하였는데, 특히 大柴胡湯

群은 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였다.

triglyceride는 콜레스테롤과 더불어 지단백 대사의 동태를 파악하는데 유용한 지표이며, 지질 대사 이상 검사의 일차적 검사 항목중의 하나로 호르몬제제사용 · 당뇨병 · 신증후군 · 췌장염 · Gaucher 씨 질환 및 저갑상선증 등의 질환에서 증가하는 경향을 보인다<sup>71,73</sup>. 혈청중 triglyceride 함량 측정 결과, 약물투여군은 모두 대조군에 비해 혈청중 triglyceride 함량이 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 감소하였으며, 少陽藥群도 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하여 少陽藥群의 기여도가 큰 것으로 나타났다.

cholesterol은 간기능장애, 각종 내분비 질환 등에서 변화하는데 당뇨병 · 신증후군 · 만성사구체신염의 활동기 · 폐색성황달 · 갑상선기능저하 · 동맥경화증 · 지질대사장애 및 급성출혈 후 등과 같은 질환에서 증가하는 경향을 나타낸다<sup>71-72</sup>. 혈청중 total cholesterol 함량 측정 결과, 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였다. 특히 大柴胡湯群은 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 감소하였으며, 少陽藥群도 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하여 少陽藥群의 기여도가 큰 것으로 나타났다.

HDL은 말초조직에서 받아들인 콜레스테롤을 에스테르화에 의하여 간으로 수송하여 이화하는 기능을 갖고 있으며, Tangier병 · LCAT결핍증 · 동맥경화증 · 신증후군 · 간경변증 등에서 감소하는 경향이 있다<sup>73</sup>. 혈청중 HDL cholesterol 함량 측정 결과, 약물투여군은 모두 대조군에 비해 혈청중 HDL cholesterol 함량이 증가하였으며 특히 大柴胡湯群은 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였다.

Total protein은 단백질 성분들의 총량으로 영양장애 · 신증후군 · 간경변증 · 전격성 간염 · hydremia 등에서 감소하는 경향이 있다<sup>73</sup>. 혈청중 total protein 함량 측정 결과, 실험군은 모두 대조군에 비하여 증가하였는데,

특히 大柴胡湯群은 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였다.

Albumin은 혈청 총단백 중에서 가장 많은 성분으로 영양상태와 간 상해 정도를 판정하는데 유용하며, 신증후군 · 중증 간질환 · 영양실조 · 단백 누출성 위장증 · 각종 염증 질환에서 감소하는 경향이 있다<sup>73)</sup>. 혈청중 albumin 함량 측정 결과, 실험군은 모두 대조군에 비하여 증가하였다. 특히 大柴胡湯群은 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였으며 少陽藥群도 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하여 少陽藥群의 기여도가 보다 큰 것으로 나타났다.

혈청중 creatinine 함량과 BUN 함량의 측정은 신장기능을 살펴보는 하나의 지표로서 creatinine 함량은 신기능장애 · 뇨로폐색 · 임신중독 · 탈수 · 장폐색 · 근염 등의 질환에서 증가하며, BUN함량은 신기능장애 · 급만성사구체신염 · 위축신 · 뇨로폐색 · 신의 파괴성질환 · 부종 · 복수 · 탈수 · 급성간염 · 갑상선기능항진증 및 부신기능항진증 등에서 증가한다<sup>71-72)</sup>. 혈청중 Creatinine 함량 측정 결과, 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였으며 특히 大柴胡湯群은 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였다. 혈청중 BUN 함량 측정 결과, 실험군은 모두 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다. 이로 보아 大柴胡湯은 腎臟의 기능에는 크게 변화를 주지 못하는 것으로 나타났다.

이상의 당뇨 지표 실험에서는 大柴胡湯은 모든 실험에서 유의성 있는 결과가 나타났으며 이는 糖尿病에 대한 일정한 치료 효과가 있음을 시사한다. 그러나 BUN 함량 측정에서는 유의성이 나타나지 않아 腎臟 機能에 대한 大柴胡湯의 영향은 크지 않는 것으로 보여진다. 또한 構成藥物群에서는 陽明藥群보다 少陽藥群이 당뇨병 치료 효과에 보다 더 기여하는 것으로 나타났다.

糖尿病 등에서 지질과산화에 의하여 조직

이 손상되므로<sup>74)</sup> *in vitro* 실험에서는 지질과산화물과 자유기의 소거 효과를 측정하기 위하여 과산화물 생성 억제 효과 · DPPH radical 소거 효과 · superoxide 생성 억제 효과 · hydroxy radical에 의한 지질과산화 반응 억제 효과를 측정하였다.

지질과산화물의 생성은 세포막 인지질을 구성하는 불포화지방산의 이중결합 부위에 superoxide radical, hydroxy radical 등이 수소를 탈취하여 fatty acid radical을 생성하며 이는 다시 산소분자와 결합하여 peroxy radical을 생성하고 이는 다시 인접한 부위에 있는 탄화수소와 연쇄적으로 반응하여 지질과산화물을 형성한다<sup>75)</sup>. linoleic acid 자동산화계를 이용하여 농도별 추출물들의 지질과산화물 생성 억제 효과를 관찰한 결과, 대조군에서의 지질과산화물의 함량은 현저한 증가를 보였으며, 항산화제인 BHT, BHA 및 tocopherol을 첨가한 실험군에서는 대조군에 비해 지질과산화물의 생성이 현저하게 억제되었다. 약물투여군에 있어서는 전반적으로 농도가 높아질수록 현저한 억제효과가 나타났다. 大柴胡湯群은 추출물의 농도가 1000 $\mu$ g부터 매우 유의성( $p < 0.01$ )이 있었고 少陽藥群은 500 $\mu$ g부터 유의성( $p < 0.01$ )이 있었으며 陽明藥群은 500 $\mu$ g부터 유의성 ( $p < 0.05$ )이 있어 少陽藥群의 기여도가 다소 큰 것으로 나타났다.

일반적으로 반응성이 강한 DPPH radical은 항산화제로부터 전자 혹은 수소원자를 얻음으로써 안정한 형태의 생성물로 전환하는 것으로 알려져 있다<sup>76-77)</sup>. 각 추출물들의 농도별 희석액에 대한 DPPH radical 소거효과를 관찰한 결과 대부분의 농도에서 농도 의존적인 radical 소거효과가 나타났으며, 특히 少陽藥群 추출물이 다른 추출물들에 비해 효과적인 소거 효과가 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다.

세포내에서 superoxide는 생체방어기전에서

도 중요한 역할을 담당하지만 지질과산화반응을 유발시킬 뿐만 아니라 더 반응성이 높은 hydroxy radical을 생성시키는 전구물질이 되기도 한다<sup>36)</sup>. xanthine-xanthine oxidase계에서 superoxide의 생성 억제 효과를 관찰한 결과 각 추출물에서 농도 의존적인 superoxide의 생성 억제효과를 보였다.

Hydroxy radical은 superoxide anion 및 hydrogen peroxide 등의 활성산소에 비하여 활성이 훨씬 강하여 생체 세포막의 지질과산화 반응을 개시하며 세포막 및 거대분자에 대한 직접적 손상을 일으키는 주된 free radical로 알려져 있다<sup>78)</sup>. Hydroxy radical에 의한 지질과산화 반응 억제 효과를 관찰해 본 결과, 항산화제인 BHT를 첨가한 실험군에서는 대조군에 비해 높은 억제 효과를 보였으며 약물투여군에 있어서 각각의 추출물들은 농도 의존적인 억제 효과를 나타내었다. 추출물의 양이 1000 $\mu$ g일 때, 少陽藥群이 추출물 중 가장 나은 지질과산화물 생성 억제 효과가 나타났으나 유의성은 인정되지 않았다.

이상의 *in vitro* 실험 결과로 보아 大柴胡湯은 과산화지질의 생성 억제효과 실험에서는 유의성이 있었지만 free radical 소거 효과 실험에서는 유의성이 인정되지 않아 大柴胡湯은 free radical에 대한 직접적인 소거 효과는 미흡한 것으로 나타났다.

Alloxan 투여 및 당뇨병에 의하여 과산화반응이 진행되어 자유기 생성 및 과산화물에 의하여 조직이 손상되어지므로<sup>79)</sup> *in vivo* 실험에서는 간기능과 관련된 GOT 및 GPT의 활성, 항산화와 관련된 lipid peroxide의 함량 · catalase 활성 · Glutathione 함량 · GST 활성 등을 측정하였다.

GOT, GPT는 간조직에 장애가 생기면 혈액 중으로 다량 유출되기 때문에 간 기능 및 손상 정도를 측정하는 지표로 널리 이용되고 있다<sup>31)</sup>. 혈청중 GOT 활성을 관찰해 본 결과,

실험군 모두 감소하였으며 특히 大柴胡湯群, 少陽藥群은 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하여 少陽藥群의 기여도가 큰 것으로 나타났다. 혈청중 GPT 활성은 大柴胡湯群은 대조군에 비해 매우 유의성( $p < 0.01$ ) 있게 감소하였으며, 少陽藥群, 陽明藥群도 모두 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였다.

Lipid peroxide는 세포막의 지질성분이 산화되어 나타나는 반응산물이므로<sup>80-81)</sup>, 생체 조직중에서 생화학적 조직 손상의 척도로 널리 이용되며 조직의 산화적 손상에 의해 야기되는 병리현상의 척도로도 활용되어 진다. 혈청과 간에서의 lipid peroxide 함량을 측정해 본 결과, 혈청 및 간에서 약물투여군 모두 대조군에 비해 양호하게 감소하였다. 혈청에서는 大柴胡湯群, 少陽藥群이 대조군에 비해 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 감소하였으나, 간에서는 모두 유의성이 인정되지 않았다.

catalase는 세포내 존재하는 항산화효소로서, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 분해하여 제거하는 작용을 가진다<sup>82)</sup>. 간에서의 catalase 활성은 약물 투여군 모두 대조군에 비해 활성이 증가함을 알 수 있었다. 그 중 특히 大柴胡湯群은 대조군에 비해 매우 유의성( $p < 0.01$ )있게 증가하였으며, 少陽藥群도 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하여 少陽藥群의 기여도가 큰 것으로 나타났다.

Glutathione은 외부에서 유입된 유독물질과 포합반응을 하여 체외로 배출시키므로<sup>83-84)</sup>, 독성물질에 대한 생체의 방어능력을 간접적으로 측정할 수 있는 기준이 될 수 있다. 간에서의 GSH 함량은 약물 투여군 모두 대조군에 비해 증가하였다. 大柴胡湯群 少陽藥群 陽明藥群 모두 대조군에 비해 유의성( $p < 0.05$ ) 있게 증가하였다.

Glutathione-S-transferase는 독성물질을 해독하며, 이종 생리물질을 체외로 배설하는 작용을 촉매하며 organic hydroperoxide를 peroxidation하여 지방산화를 방지하며 세포



의 내성을 증가시키는 중요한 작용을 한다<sup>85-87)</sup>. 간에서의 GST 활성은 약물 투여군 모두 대조군에 비해 감소하였으나 유의성은 인정되지 않았다.

이상에서 *in vivo*에서의 항산화 방어계에 미치는 영향을 살펴본 바 大柴胡湯은 간기능을 일정하게 개선시키며, 또한 항산화계에서의 효소 활성화 및 지질과산화물 제거에 일정한 영향을 미치는 것으로 보여진다.

결론적으로 大柴胡湯은 강한 항산화효과는 인정되지 않았지만 당뇨병에 대한 일정한 치료 효과가 있음을 보여 주었으며 이는 당뇨병 치료제로서의 유효성을 시사한다. 이후 본 연구를 바탕으로 구체적인 치료제 개발에 관한 연구와 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 結 論

大柴胡湯이 당뇨에 미치는 영향, 자유기 소거 효과 및 항산화 방어계에 미치는 영향을 알아보기 위하여 alloxan으로 유도된 高血糖 白鼠에 大柴胡湯 및 그 構成藥物群을 투여한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 흰쥐의 혈청중 glucose 함량 측정 결과, 약물투여군 모두 대조군에 비하여 glucose 함량이 감소하였으며 특히 大柴胡湯群이 유의성 있게 감소하였다.
2. 혈청중 triglyceride와 total cholesterol 함량 측정에서는 大柴胡湯群이 매우 유의성 있게 감소하였으며, 少陽藥群도 유의성 있게 감소하였다. 혈청중 HDL cholesterol 함량 측정에서는 大柴胡湯群이 매우 유의성 있게 증가하였다.
3. 혈청중 total protein 함량 측정에서는 大柴胡湯群이 유의성 있게 증가하였으며, albumin

함량 측정에서는 大柴胡湯群이 매우 유의성 있게 증가하였으며 少陽藥群도 유의성 있게 증가하였다.

4. 혈청중 creatinine 함량 측정에서는 大柴胡湯群이 유의성 있게 감소하였으며, 혈청중 BUN 함량 측정에서는 모두 유의성이 인정되지 않았다.
5. 지질과산화물 생성 억제 효과를 관찰한 결과, 大柴胡湯群은 전반적으로 농도가 높아 질수록 유의성 있는 억제효과가 나타났으며, 陽明藥群보다 少陽藥群이 낮은 농도에서부터 유의성이 인정되었다.
6. DPPH radical 소거 효과, superoxide의 생성 억제 효과, hydroxy radical에 의한 지질과산화 반응 억제 효과의 관찰에서는 모두 유의성이 인정되지 않았다.
7. 혈청중 GOT 활성 관찰에서는 大柴胡湯群과 少陽藥群이 유의성 있게 감소하였으며, 혈청중 GPT 활성 관찰에서는 大柴胡湯群이 매우 유의성 있게 감소하였으며 少陽藥群, 陽明藥群도 유의성 있게 감소하였다.
8. 혈청중 lipid peroxide 함량 측정에서는 大柴胡湯群과 少陽藥群이 유의성 있게 감소하였으나, 간에서의 lipid peroxide 함량 측정에서는 모두 유의성이 인정되지 않았다.
9. 간에서의 catalase 활성은 大柴胡湯群이 매우 유의성 있게 증가하였으며, 少陽藥群도 유의성 있게 증가하였다. 간에서의 glutathione 함량은 大柴胡湯群 少陽藥群 陽明藥群 모두 유의성 있게 증가하였으나, 간에서의 GST 활성은 모두 유의성이 인정되지 않았다.

結論으로 大柴胡湯은 강한 抗酸化效果는 인정되지 않았지만 糖尿病에 대한 일정한 치료 효과가 있음을 보여 주었으며 이는 糖尿病 治療劑로서의 有效性を 示唆한다고 思料된다.

## 參 考 文 獻

- 1) 張機: 金匱要略方論, 台北, 台聯國風出版社, pp. 286-287, 1973
- 2) 申載鏞: 方藥合編解說, 서울, 成輔社, p.212-213, 1991
- 3) 裴秉哲: 標準臨床方劑學, 서울, 成輔社, pp.199-200, 1995
- 4) 민현기: 한국인 당뇨병의 임상적 특징, 당뇨병, 16(3):163-174, 1992
- 5)李文鎬: 內科學(下卷), 서울, 金剛出版社, pp.2209-2233, 1979
- 6) 鄭大奎: 加味地黃湯과 鴨跖草가 實驗的 糖尿에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院, 1988
- 7) 曹茂相: 實驗的 糖尿에 대한 淸胃滋腎劑의 效果, 大邱, 慶山大學校大學院, 1994
- 8) 安弼濬: 保健社會白書, 보건사회부, pp.87-88, 1992
- 9) 杜鎬京: 東醫腎系內科學, 서울, 東洋醫學研究院出版部, pp.430, 594-613, 1987
- 10) 金完熙: 消渴에 응용되는 白虎湯이 Alloxan糖尿에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校大學院, 1978
- 11) 江西新醫學院: 常見病中醫臨床手冊, 上海, 人民衛生出版社, pp.232-233, 1978
- 12) 上海中醫學院 編: 中醫內科學, 香港, 商務印書館, pp.503-517, 1983
- 13) 實用中醫內科學編輯委員會: 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.475-477, 1986
- 14) 江克明 包明蕙: 簡明方劑辭典, 上海, 上海科學技術出版社, p.96, 1989
- 15) 裴秉哲: 天真處方解說, 서울, 成輔社, pp.263-266, 1995
- 16) 金長烈: 大柴胡湯 煎湯液이 CCl<sub>4</sub>로 유발된 白鼠 간손상에 미치는 影響에 관한 연구, 서울, 醫藥社, 漢醫學學位論文集, pp.615-630, 1980
- 17) 加藤正秀 等: 柴胡劑의 抽出平滑筋에 對する 作用, 日藥學雜誌, 102(4), pp.371-380, 1982
- 18) 許浚: 東醫寶鑑(雜病篇), 서울, 大星文化社, pp.110, 331-342, 1992
- 19) Miwa, I., Toyoda Y. and Okuda J.: J. of Medical Technology, 22:1232, 1978
- 20) 木村正康, 鈴木潤: 和漢藥심포지엄, 日本, 富山醫科藥科大學和漢藥研究所, 14:121, 1971
- 21) Van Handel, E. and Zilversmit, D.B.: J. Lab. and Clin. Med., 50:152, 1957
- 22) Ellesfson, R.D. and Caraway, W.T: Ch, 10, Lipids and Lipoproteins, in Fundamentals of Clinical Chemistry, (Tietz, N.W.ed), W.B. Saunders, Philadelphia, 1976
- 23) Mizuta, I., Toyoda, Y. and Okuda, J.: Journal of Medical Technology, 22:1232, 1978
- 24) Daumas, B. T., Watson, W. A. and Biggs, H.G.: Clin. Chem. Acta., 8:810, 1963
- 25) Miller, B.F. and Dubos, R.: Studies on the presence of creatinine in human blood, J. Bio. Chem., 121: 447, 1937
- 26) 齊藤正行: 臨床檢査, 日本, 8:878, 1965
- 27) Chaney, A. L. and Marbach, E.P.: Clin. Chem. Acta., 8: 810, 1963.
- 28) Osawa, T., Namiki, M.: A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. Agric. Biol. Chem. 45:735-739, 1981
- 29) Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.: Assay for lipid peroxides animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochem. 95:351-358, 1978
- 30) Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T.,

- Okuda, T.: Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem. Pharm. Bull.* 36:2090-2097, 1988
- 31) Retman, S. and Frankel, S.: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, *Am. J. Clin. Patol.*, (28):58-63, 1957
- 32) Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S., and Yagi, K.: Serum lipoperoxide levels in patients suffering from liver disease. *Clin. Chim. Acta.* 79:267-770, 1977
- 33) Aebi, H.: In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U. eds.), New York, Academic press. pp.674-678, 1974
- 34) Ellman, G. L.: Tissue sulfhydryl group, *Arch. Biochem. Biophys.*, 82:70-77, 1959
- 35) Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase; the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139, 1974
- 36) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193:265-275, 1951
- 37) Daniel M. Bollag, Stuart J. Edelstein: *Protein Method*, New York, Wiley, pp.55-56, 1991
- 38) 王廷富: 金匱要略指難, 四川, 四川科學技術出版社, p.191, 1986
- 39) 韓醫科大學方劑學教授 共編: 方劑學, 서울, 永林社, pp.260-261, 1999
- 40) 서울대학교의과대학 編: 내분비학, 서울, 서울대학교출판부, p.225, 173-177, 201-205, 1988
- 41) 金在百 外: 病態生理學, 서울, 도서출판사론, pp.373-377, 1984
- 42) 杜鎬京: 東醫腎系內科學, 서울, 東洋醫學研究院出版部, pp.430, 594-613, 1987
- 43) 申載鏞: 糖尿病과 消渴, 서울, 成輔社, pp.11-12, 16-17, 21-22, 58-60, 72-74, 135-138, 164, 1984
- 44) 申永基: 臨床診斷學, 서울, 癸丑文化社, pp.555-557, 1987
- 45) Lenzen, S., Penten, U.: Glucokinase in pancreatic  $\beta$ -cell and its inhibition by alloxan, *Acta. Endocrinol.*, 115:21-29, 1987
- 46) Lenzen, S., Tiedge, M., Penten, U. : Glibenclamide induced glucokinase in rat pancreatic islets and liver, *Biol. Pharmacol.*, 35(16):2841-2843, 1986
- 47) Sharma, C., Manjeshwar, R., Weinhouse, S.: Effects of diet and insulin on glucos-adenosine triphosphate phosphotransferases of rat liver, *J. Biol. Chem.*, 238:3841-3845, 1963
- 48) Walker, D., Rao. S.: The role of glucokinase in the phosphorylation of glucose by rat liver, *Biochem. J.*, 190:360, 1964.
- 49) Bedoya, F. J., Wilson, J. M., Ghosh, A. K., Finegold, D., Matschinsky, F. M.: The glucokinase glucose sensor on Human pancreatic islet tissue, *Diabetes*, 35:61-67, 1986
- 50) Meglasson, M. D., Burch, P. T., Bemer, P. K., Najafh, H., Marchisky, F. M.: Identification of glucokinase as the alloxan-sensitive glucose sensor of the pancreatic  $\beta$ -cell, *Diabetes*, 35:1163-1173, 1986

- 51) 方藥中: 實用中醫內科學, 上海科學技術出版社, pp.477, 1986
- 52) 柴瑞霽: 基層中醫學習園地, 消渴, 山西中醫, (1):56, 1993
- 53) 楊維傑: 黃帝內經, 臺北, 國風出版社, (素問) pp. 67, 131, 257, 290, 320, 356 (靈樞) pp.39, 342, 349, 402, 1981
- 54) 王肯堂: 六科准繩, 臺北, 上海鴻寶齋書局, pp.302-308, 1982
- 55) 劉完素: 劉河間三六書, 서울, 成輔社, pp.83, 84, 369, 370, 1976
- 56) 李東垣: 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp.164-168, 1983
- 57) 林佩琴: 類證治裁, 臺北, 旋風出版社, pp.261-264, 1978
- 58) 張從正: 儒門事親, 河北, 河北科學技術出版社, pp.193-201, 1984
- 59) 朱震亨: 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, pp.503-509, 1990
- 60) 世宗朝命撰: 鄉藥集成方, 서울, 杏林書院, pp.381-401, 1989
- 61) 周命新: 醫門寶鑑, 서울, 一中社, pp.286-289, 1991
- 62) 樓英: 醫學綱目, 臺北, 北一出版社, pp.45-68, 1973
- 63) 江西新醫學院: 常見病中醫臨床手冊, 上海, 人民衛生出版社, pp.232-233, 1978
- 64) 葉天士: 臨證指南醫案, 臺北, 新文豐出版公司, pp.415-416, 1980
- 65) 虞搏 外: 醫學正傳, 서울, 成輔社, pp.276-280, 1986
- 66) 趙獻可: 醫貫, 北京, 人民衛生出版社, pp.78-80, 1959
- 67) 王熙: 外臺秘要, 臺北, 國立中國醫藥研究所, pp. 303-319, 1964
- 68) 陳言: 陳無擇三因方(下), 北京, 韓成社, pp.11-17, 1993
- 69) 大韓糖尿病學會: 糖尿病學, 서울, 高麗醫學, pp.139-141, 1992.
- 70) 이태희: 糖尿病, 光州, 全南大學校出版部, pp.16-25, 1990
- 71) 醫學教育研究院篇: 症狀別臨床檢査, 서울, 서울대학교출판부, pp.12, 50, 379, 1991
- 72) 理工産業編輯部篇: HANDY 臨床檢査法, 서울, 理工産業, pp.191, 202, 227-230, 1973
- 73) 김순호 손한철 이은엽 장철훈: 최신임상검사진단학, 서울, 癸丑文化社, pp.107-111, 130-131, 1996
- 74) Steinberg, D, Parthasarathys, Carew T.E., Khoo J.C., Witztum J.L.: Modification of low-density-lipoprotein that increase its atherogenicity. N. Eng. J. Med. 320:915-924, 1989
- 75) 尹哲浩 外: 흰쥐의 肝組織에서 鹿茸藥鍼製劑의 抗酸化作用에 관한 研究, 大韓韓醫學會誌, 17(2):191-202, 1996
- 76) 裴基采: 高麗人蔘, 高麗紅蔘 및 total saponin의 抗酸化 作用, 大田大學校大學院, 1997
- 77) 文振榮 外: 柴胡가 free radical에 의한 脂質過酸化物 生成에 미치는 效果. 東國論文集自然科學篇, Vol.15:361-375, 1996
- 78) 金永坤 金永杓: 프리라디칼, 서울, 麗文閣, pp.64-65, 1997
- 79) Steinberg, D, Parthasarathys, Carew T.E., Khoo J.C., Witztum J.L.: Modification of low-density-lipoprotein that increase its atherogenicity. N. Eng. J. Med. 320:915-924, 1989
- 80) David, R.: Mechanistic toxicology; A radical perspective. J.P harm. pharmacol., pp.41, 505-511, 1989
- 81) Barry, H.: Oxidants and human disease : Some new concepts, FASEB. J., pp.1, 358-364, 1987

- 82) 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
- 83) Boyland, E. and Chasseud, L. F.: The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *ADV. Enzymol.*, 32:173-219, 1969
- 84) 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
- 85) Armstrong, R. N.: Glutathione S-transferases: Structure and mechanism of an archetypical detoxification enzyme. *Adv. Enzymol.* 69:1-44, 1994
- 86) Hayes, J. D., T. J. Mantle, and C. B. Pickett.: Glutathione S-transferase and drug resistance. Taylor and Francis. London. 1990
- 87) Tew, K. D., C. B. Pickett T. J. Mantle, B. Mannervik, and J. D. Hayes.: Structure and function of glutathione S-transferase. CRC press, Inc., Boca Raton. F. L. 1993