대한한방내과학회지 제22권 1호(2001년 3월)
Korean J.Orient.Int. Med. 2001;22(1):63-71

冬蟲夏草가 hydrocortisone으로 유발시킨 陽虛 動物模型에서 抗酸化 作用에 미치는 影響

박종혁, 이구형, 민건우, 윤철호, 서운교, 정지천, 한영환*, 신억섭**

동국대학교 한의과대학 내과학교실, 동국대학교 자연과학대학 생물학과*, 동국대학교 의료원 약제과**

Effects of *Cordyceps Sinensis* on Antioxidation in the Livers of Hydrocortisone Acetate-Treated Rats.

Jong-Hyuck Park, Gu-Hyong Lee, Gun-Woo Min, Cheol-Ho Yoon, Un-Kyo Seo, Ji-Cheon Jeong, Yeong-Hwan Han*, Uk-Seob Shin**

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University
Department of Biology, College of Natural Science, Dongguk Univ*, Department of Pharmmacy, Dongguk Medical Center**

Objectives : *Cordyceps Sinensis* (CS) was tested for the effects of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in the liver.

Methods : We measured the changes in body weight, enzyme activity, lipid peroxide and the death rate in the hydrocortisone acetate-treated rats.

Results : *In vitro*, CS didn't effect levels of lipid peroxide, the activities, and the ratio of type conversion of xanthine oxidase. In the hydrocortisone acetate-treated rats, lipid peroxide, the activities, the ratio of type conversion of xanthine oxidase, and the death rate all increased. But, glutathione peroxidase and superoxide dismutase decreased. *In vitro*, after CS was administered to hydrocortisone acetate-treated rats, the levels of lipid peroxide in the liver, and the death rate decreased. However, the activities, and the ratio of type conversion of xanthine oxidase decreased. The body weight, glutathione peroxidase, and superoxide dismutase in+creased. The effects of Sinensis *Cordyceps Broth* did better than the effects of *Sinensis Cordyceps Mycelia*.

Conclusions : These results suggest that CS decrease the activities of free radical generating enzymes which form lipid peroxide and increase the activities of oxygen free radical scavenging enzymes.

Key Word : *Cordyceps Sinensis Broth*, hydrocortisone, lipid peroxidation, Antioxidation, *Cordyceps Sinensis Mycelia*

I. 緖 論

陽虛證은 神疲乏力 怕冷 四肢不溫 自汗 大便溏薄 小便淸長 舌質淡胖 脈細無力 등의 症狀으로 體質薄弱, 年老體弱, 飮食失調, 房室過度, 出血, 失精, 大汗, 久病 失治 誤治 등에 의해 발생한다[1-3]. 주된 원인은 대사기능 저하에 따른 면역력 저하[4]와 노화에 따른 체력 저하[1]이다.

陽虛證에 대한 실험연구에 의하면 대량의 hydrocortisone acetate를 투여하여 耗渴 현상으로 나타나는 일계열의 虛弱 증상이 陽虛證과 유사하여 陽虛動物模型으로 개발하여 사용하고 있다[5,6].

Free radical은 여러 조직에서 심한 독성을 나타내어 치매, 심근경색, 신부전, 암 등 많은 질병을 일으키는 病因으로 작용한다[9]. Xanthine oxidese[10]와 aldehyde oxidese[11] 등의 효소들은 생성에 관계한다. Superoxide dismutase[12], catalase[13], glutathione peroxidase[14] 등의 효소들은 분해에 관여한다.

東醫學에서 活性酸素와 관련된 硏究는 노화의 중요 원인인 腎虛에 대하여 주로 이루어졌는데[15,16], 腎虛群에서 과산화지질 함량이 상승하고[17] SOD의 활성이 低下된다고[18] 하였다. 또한 腎陽虛群에서 흰쥐의 혈청중 SOD 활성을 증가시켰다는 보고가 있다[19].

冬蟲夏草는 麥角菌 (*Clavicipitaceae*)에 속한 동충하초균이 박쥐나방과 곤충인 蟲草蝙蝠蛾 (*Hepialus armoricanus O.*) 등의 유충에 기생하여 자란 子實體와 유충을 건조한 것이다. 腎經으로 歸經하여 補腎陽, 補虛損, 益精氣, 補肺腎 등의 效能을 지니고 있어 陽痿, 病後久

접수 : 2001년 5월 10일 채택 : 2001년 6월 12일
교신저자 : 박종혁 (서울시 강남구 논현1동 37-21 동국대학교 강남한방병원, 전화 : 02-3416-979, FAX : 02-3444-9171, E-mail : parcohu@hanmail.net)

虛不復, 自汗盜汗, 遺精, 痰飮喘嗽 등의 치료에 사용되고 있다[20-29]. 실험연구로 항암[30], 면역기능 증강 효과[31] 등의 보고가 있으나 陽虛證과 항산화 작용에 관련된 보고는 접하지 못하였다.

이에 著者는 hydrocortisone으로 陽虛證을 유발시킨 動物模型에서 冬蟲夏草의 菌絲體와 培養濃縮液이 항산화 작용과 관련하여 효과를 나타내는지를 살펴보고자 한다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 약재

冬蟲夏草 (*Cordyceps Sinensis*)의 균사체와 배양 농축액을 배양하여 사용하였다.

2) 시약 및 기기

Bovine serum albumin (BSA), glutathione reduced, hydrocortisone acetate, hematoxyline, nicotineamide adenine dinucleotide (NAD), sodium chloride, sodium hydroxide, thiobarbituric acid sodium salt, tris base, uric acid sodium salt, xanthine sodium salt는 Sigma사의 제품을, nicotineamide adenine dinucleotide phosphate reduced form (NADPH)은 Kohjin사의 제품을, 5,5' -dithiobis (2-nitrobenzoic acid), trichloroacetic acid는 Nakarai사의 제품을, potassium phosphate mono and dibasic은 Wako pure Chemical은 Fluka사의 제품을, malondialdehyde (MDA)는 Aldrich사의 제품을 각각 사용하였다. 그 외 이 실험에 사용한 시약은 특급품 내지는 일급품을 사용하였다.

3) 동물

동일한 조건 아래 사육된 외관상 건강한 웅성 Sprague-Dawley계 흰쥐 (220 g 내외)를 사용하였다. 실험동물은 실험전 16시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

2. 방법

1) 冬蟲夏草 菌絲體 (mycelia) 배양

준비된 10 ml의 冬蟲夏草 포자용액 (10^4 spores/ml)을 100 ml GYT 액체배지 (250 ml 삼각플라스크, 조성 : glucose 5%, yeast extract 0.5%, tryptone 0.2%)에 접종하여 27℃에서 10일간 진탕배양하였다. 준비된 액체 종균 100 ml을 20 l의 水桶 배양기에 접종하여 27℃에서 10일간 定置培養하였다. 水桶 배양기에는 에어펌프로부터 여과기 (milipore ø=0.2 μm)를 통과한 제균 공기가 배양기내의 액체배지에 산소가 충분히 공급되도록 하였다.

2) 冬蟲夏草 菌絲體 및 培養濃縮 시료의 제조

① 冬蟲夏草 菌絲體 試料 (SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia)의 제조

액체 배양된 배양액을 두겹의 거즈 (gauze)로 여과한 후, 걸러진 균사체를 증류수로 2-3회 세척하였다. 회수된 균사체를 24시간 동안 동결 (-20℃)한 다음 동결된 균사체를 동결건조기 (-50℃, 9 mmTorr)로 건조하여 사용하였다.

② 冬蟲夏草 培養濃縮液 試料 (SCB : Sinensis Cordyceps Broth)의 제조

액체 배양된 배양액을 두겹의 거즈 (gauze)로 여과한 후, 여액을 원심분리하여 胞子와 잔존하는 균사체를 제거하였다. 상등액을 감압농축하여 배양 농축액을 얻은 후, 24시간 동안 동결 (-20℃)하였다. 동결된 농축 시료를 동결건조기 (-50℃)를 사용하여 건조한 후 시료를 사용하였다.

冬蟲夏草 (SCB, SCM) 투여는 실험동물의 체중 kg당 200 mg을 10일간 경구투여하였으며 대조군은 동량의 생리식염수를 투여하였다.

2) Hydrocortisone 독성 모델동물

실험동물의 독성모델은 김의 방법[1]을 참조하여 hydrocortisone acetate를 체중 kg당 50 mg을 1일 1회 7일간 복강주사하여 毒性動物模型을 만들었다.

3) 효소원의 조제

각 실험동물은 마취하에 복부 정중선을 따라 개복한 후 생리식염수로 간장을 관류시키고 적출하였다. 적출한 간장은 생리식염수에 씻은 다음 여지로 가볍게 압박하여 이물질 또는 생리식염수를 제거하였다. 간조직 g당 4배량의 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5, 이하 K.P. buffer로 약함)를 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄 균질액을 600 ×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상징액을 얻었다. 이것을 이용하여 과산화지질 함량을 측정하였다. 상징액을 다시 10,000 ×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondrial fraction을 제거시켰다. 한편 mitochondrial fraction을 제거시킨 상징액을 105,000 ×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosolic fraction을 분리하였다. Cytosolic fraction은 xanthine oxidase, glutathione peroxidase 및 superoxide dismutase 활성 측정의 효소원으로 사용하였다. 이상의 모든 조작은 0-4℃에서 행하였다.

4) 효소 활성의 측정

① Xanthine oxidase 활성 측정

Xanthine oxidase (type O) 활성 측정은 Stirpe 등의 방법32)에 준해 0.1 M K.P. buffer (pH 7.5) 일정량에 기질인 xanthine 60M 및 효소원을 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 다음 20% TCA를 가하여 제단백시키고 원심분리하였다. 이때 생성되어진 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성을 산정하였다. 한편 xanthine dehydrogenase (type D)의 활성은 type O의 활성 측정 반응액에 coenzyme인 NAD+100 mM을 첨가해 동일하게 반응시킨 다음 측정하여 나온 활성도 (total type : type D+O)에서 type O의 활성을 감한 값으로 산정하였다. 효소 활성은 1분당 1 mg의 단백질이 생성시킨 uric acid 양을 nmole로 나타내었다. 한편 xanthine 산화 효소의 형전환비 산출은 xanthine dehydrogenase 및 xanthine 산화 효소 반응에서 얻어진 효소 활성을 이용하여 xanthine dehydrogenase (type D)에서 xanthine oxidase (type O)로의 형전환 비율을 O/O+D의 비로 산출하였다.

② Glutathione peroxidase 활성 측정

Glutathione peroxidase 활성 측정은 Paglia 등의 방법[33]에 준해 일정량의 0.1 M Tris HCl buffer (pH 7.2) 용액에 기질인 H_2O_2, 1 mM glutathione, glutathione reductase (2 I.U.), 0.2 mM NADPH 및 효소원을 첨가하여 25℃에서 5분간 반응시키는 동안에 생성되는 GSSG를 환원시키는데 소비된 NADPH의 함량을 340 nm에서 측정하여 활성을 산정하였다. 효소 활성은 1분당 1 mg의 단백질이 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 나타내었다.

③ Superoxide dismutase 활성 측정

Superoxide dismutase 활성 측정은 Martin 등의 방법[34]에 준해 실시하였다. 효소원 조제 방법에 따라 분리된 cytosolic fraction에 EtOH : $CHCl_3$ (5 : 3)혼액 0.4배량을 가하여 잘 혼합한 다음 10,000 ×g에서 20분간 원심분리하여 상징액을 얻고 이것을 superoxide dismutase 활성 측정 효소원으로 사용하였다. 반응액은 50 mM K.P. buffer (pH 7.5, EDTA 0.1 mM 함유) 일정량에 5 mM hematoxylin, 효소액의 용량을 달리하여 첨가하고 최종 반응액이 3.0 ml가 되게하였다. 이 반응액을 25℃에서 5분간 반응시킨 다음 560 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 활성을 산정하였다. 효소 활성의 unit는 효소를 넣지 않고 반응시킨 5 mM hematoxylin액의 흡광도 증가를 50% 억제하는 단백질의 양으로 산정하였다.

5) 체중 변화 측정

실험동물의 몸무게 변화측정은 각각의 실험군별로 10마리씩 선정하여 시료투여 개시일부터 5일째와 10일째 체중을 측정하여 평균값을 산정하였다.

6) 과산화지질 함량 측정

과산화지질 함량 측정은 Ohkawa 등의 방법[35]에 준해 간, 신 및 뇌조직 마쇄균질액 일정량에 8.1% sodium dodesyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가해 95℃에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-Butanol : Pyridine (15 : 1) 혼액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 과산화지질 함량은 조직 1g당 MDA의 양을 nmole로 나타내었다.

7) 사망률 측정

실험동물의 사망률 측정은 정상동물과 冬蟲夏草 (SCB, SCM) 추출물을 투여한 동물에 hydrocortisone acetate (50 mg/kg)을 15일간 복강주사하여 사망률을 관찰한 다음 통계처리하였다.

8) 단백질의 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법[36]에 준해 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 행하였다. 한편 실험 결과의 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 상호 비교하였다.

III. 成 績

1. 시험관내에서 xanthine oxidase 활성에 미치는 영향

효소 활성을 측정하는 반응액 중에 기질인 xanthine과 효소액을 가하고 이 반응액중에 冬蟲夏草 SCB와 SCM의 농도를 달리하면서 첨가시키고 활성을 측정하였을 때 첨가량을 각각 0.4 mg/ml까지 증가시켜도 xanthine oxidase 활성에는 아무런 영향을 미치지 않았다(Fig.1, Fig.2).

2. 시험관내에서 과산화지질의 함량에 미치는 영향

두 가지 종류의 冬蟲夏草 모두 시험관내에서 농도를 증가시켜 가면서 과산화지질 함량을 관찰하였을 때 SCB와 SCM 모두 과산화지질 함량에 아무런 영향을 미치지 않았다(Fig.4).

3. 체중변화에 미치는 영향

실험을 시작할 때의 체중은 모든 군에서 거의 비슷한 수준이었으나 시료투여 5일째에는 hydrocortisone 투여 독성군의 체중이 다른 실험군에 비해서

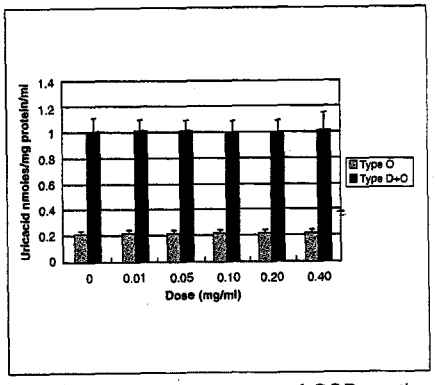

Fig. 1. Effect of the extract of SCB on the hepatic xanthine oxidase activity in vitro.The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 3 separate experiments.

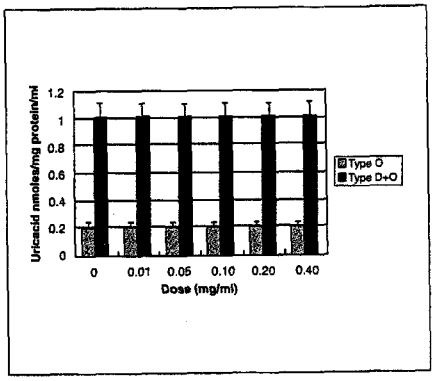

Fig. 2. Effect of the extract of SCM on the hepatic xanthine oxidase activity in vitro. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 3 separate experiments.

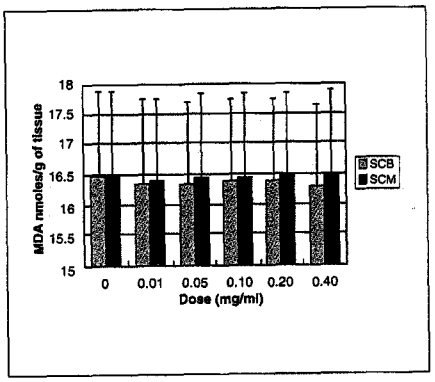

Fig. 3. Effect of the extract of SCM and SCM on the hepatic lipid peroxidation in vitro. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 3 separate experiments.

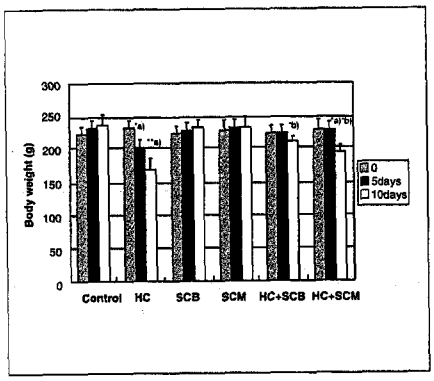

Fig. 4. Changes of bodyweight as the treatment with the extract of SCB and SCM treated rats in model induced hydrocortisone acetate.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 0-10 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 10 animals.
a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P<0.05, ** : P<0.01). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth.

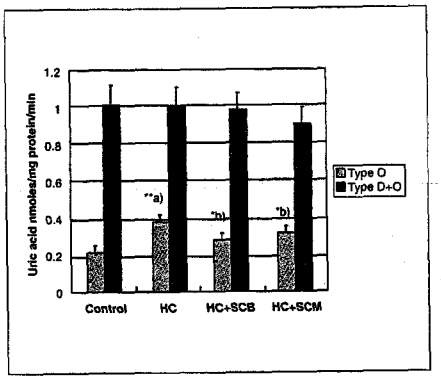

Fig. 5. Effect of the extract of SCB and SCM on the hepatic xanthine oxidase activity in hydrocortisone acetate-treated rats. Rats were received with SCB and SCM extract (200mg/kg, p.o.) daily for 10 days, and hydrocortisone acetate (50mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals.
a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P<0.05, ** : P<0.01). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth.

현저하게 감소하기 시작하였다. 그러나 冬蟲夏草를 병용 투여한 실험군은 다소 감소는 하였으나 정상군에 비하여 현격한 체중 변화는 나타나지 않았다. 시료 투여 10일째에는 hydrocortisone 투여군에서 정상동물에 비해 체중의 감소가 5일째에 비해 더욱 심하게 나타났다. 반면에 冬蟲夏草와 hydrocortisone을 병용 투여한 실험군의 경우는 hydrocortisone 단독 투여군의 체중변화와는 달리 거의 정상수준 가깝게 체중이 회복되는 양상을 나타내었으며, SCB의 효과가 SCM에 비하여 강하게 나타났다 (Fig.3).

4. Xanthine oxidase 활성에 미치는 영향

Type O 활성의 경우 정상군의 효소 활성은 0.227 nmoles이었다. 그러나 hydrocortisone 독성군은 0.401 nmoles로서 정상군에 비하여 약 80% 정도로 현저하게 증가하였다. 그러나 冬蟲夏草와 hydrocortisone을 병용 투여한 실험군의 경우는 효소 활성이 hydrocortisone 단독투여군에 비해 유의성 있게 억제되었다. 두가지 冬蟲夏草 중에서 SCB의 작용이 SCM의 효과보다 강하게 나타내었다. Type D+O의 경우는 모든 실험군에서 별다른 변화가 없었다(Fig.5).

5. Xanthine oxidase 형전환비에 미치는 영향

정상군의 형전환비는 22.4% 이었으나 hydrocortisone을 일주일간 투여한 모델동물의 형전환비는 40.2%로서 정

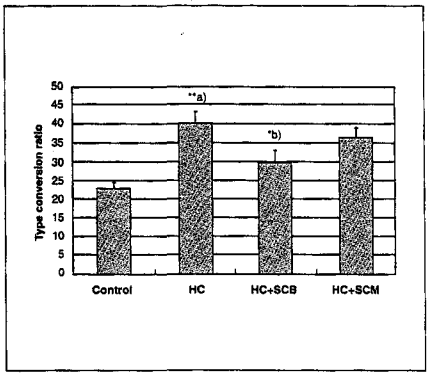

Fig. 6. Effect of the extract of SCB and SCM on the type conversion of hepatic xanthine oxidase in hydrocortisone acetate-treated rats.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control,.b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P<0.05, ** : P<0.01). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth.

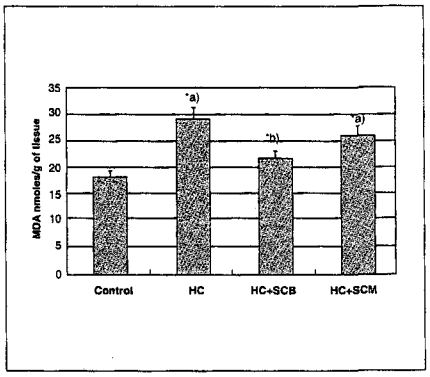

Fig. 7. Effect of the extract of SCB and SCM on the content of hepatic lipid peroxide in hydrocortisone acetate-treated rats.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P< 0.05). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth.

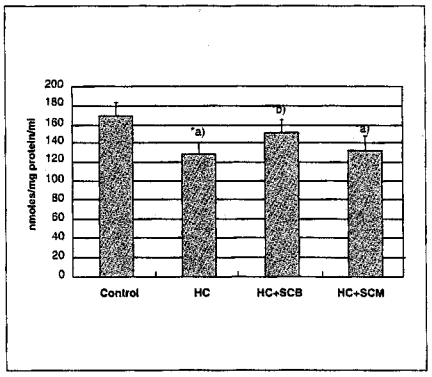

Fig. 8. Effect of the extract of SCB and SCM on the hepatic glutathione peroxidase activity in hydrocortisone acetate-treated rats.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P< 0.05). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth.

상군에 비해 현저하게 증가하였다. 반면에 冬蟲夏草 SCB와 hydrocortisone을 병용 투여한 경우는 30.1%로서 hydrocortisone 단독투여군에 비해 유의성 있게 억제하였다. 冬蟲夏草 SCM의 경우도 SCB의 경우와 마찬가지로 xanthine oxidase 억제효과를 나타내었으나 유의성은 없었다(Fig.6).

6. 과산화지질 함량에 미치는 영향

간조직중의 과산화지질 함량은 정상군의 경우에 18.1 nmoles이었으나 hydrocortisone을 일주일간 투여한 독성 유발군의 경우는 29.3 nmoles로 정상군에 비해 현저하게 증가하였다. 그러나 冬蟲夏草 SCB와 hydrocortisone을 병용 투여한 경우의 함량은 21.6 nmoles로서 hydrocortisone 단독투여군에 비해 유의성 있게 감소하였다. 冬蟲夏草 SCM의 경우는 과산화지질 함량을 감소시키는 효과는 나타났지만 유의성은 없었다(Fig.7).

7. Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향

정상군의 효소 활성이 167.3 nmoles이었으나 hydrocortisone 독성군의 효소 활성은 129.9 nmoles로 정상군에 비해 유의성 있게 억제되었다. 그러나 冬蟲夏草 (SCB, SCM)와 hydrocortisone을 병용 투여한 실험군에서는 효소 활성이 정상수준으로 회복되는 경향을 보였으며, 특히 SCB의 경우는 유의성 있게 증가하였다(Fig.8).

8. Superoxide dismutase 활성에 미치는 영향

간장 조직의 superoxide dismutase 활성은 정상군에서 4.25 units이었으나 hydrocortisone 투여군의 경우에 2.98 units로 현저하게 억제되었다. 반면에 冬蟲夏草와 hydrocortisone을 병용 투여한 실험군에서는 효소 활성이 SCB의 경우 3.73 units로 hydrocortisone 투여군에 비해 유의성 있게 증가하였다. SCM 의 경우는 효소 활성이 3.17 units로 정상동물 수준으로 회복되는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다 (Fig.9).

9. 사망률에 미치는 영향

정상군의 사망률은 6.7%이었으나 hydrocortisone을 투여한 실험군은 사망률이 86.7%로 현저하게 증가하였다. 반면에 冬蟲夏草 (SCB, SCM)와 hydrocortisone을 병용 투여한 경우에 SCB은 26.7%, SCM는 43.3%로 각각

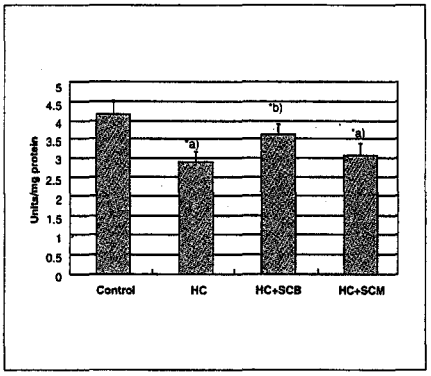

Fig. 9. Effect of the extract of SCB and SCM on the content of hepatic superoxide dismutase activity in hydrocortisone acetate-treated rats.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 10 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 7 days. The assay procedure was described in the experimental methods.
Values are mean ± SE for 5 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P< 0.05). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth

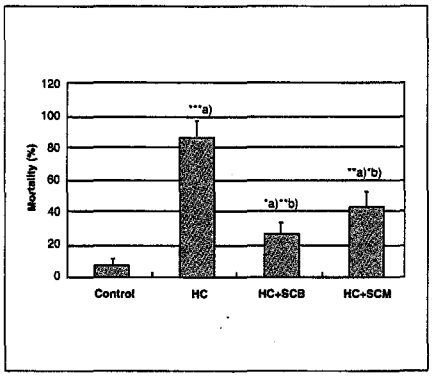

Fig. 10. Effect of the extract of SCB and SCM on the Mortality in hydrocorti- sone acetate-treated rats.
Rats were received with SCB and SCM extract (200 mg/kg, p.o.) daily for 15 days, and hydrocortisone acetate (50 mg/kg) intraperitoneally daily for 15 days. The assay procedure was described in the experimental methods.
Values are mean ± SE for 30 animals. a) Significantly different from control, b) Significantly different from hydrocortisone acetate-treated group (* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P <0.001). HC : hydrocortisone acetate treated group. SCM : Sinensis Cordyceps Mycelia, SCB : Sinensis Cordyceps Broth

유의성 있게 감소하였다(Fig.10).

IV. 考 察

陽虛證은 神疲乏力 怕冷 四肢不溫 自汗 大便溏薄 小便淸長 舌質淡胖 脈細無力 등의 症狀으로[1-3] 대사기능 저하에 따른 혈액순환 장애 · 에너지생산 저하 및 면역력 저하[4], 노화에 따른 체력 저하[5]등에 의해 나타난다.

최근 陽虛證에 대한 실험연구는 실험동물에 대량의 hydrocortisone acetate를 투여하여 耗竭현상으로 나타나는 일계열의 虛弱症狀이 陽虛證과 유사하여 陽虛 동물모형으로 개발하여 사용하고 있다[5,6]. 김[7]은 hydrocortisone acetate로 유발시킨 虛弱症狀이 陽虛 동물모형으로 적합한지 與否를 알아보기 위하여 hydrocortisone acetate를 투여한 후 외관변화, 체중, 사망수 및 강제유영시간을 측정하였는데 외관변화는 투여 후 약 3일 후부터 毛髮疏鬆, 不光澤, 消瘦, 肢冷 등의 症狀을 명현하게 나타내기 시작하여 반응이 遲鈍하고 활동이 없다가 심한 경우 閉眼하였으며, 체중과 강제유영시간은 hydrocortisone acetate의 투여기간과 양에 비례하여 감소되었고, 사망수는 증가되었다. 그러나 실험동물에 대량의 hydrocortisone acetate를 투여함으로써 단기간에 조성된 虛弱症狀이 비교적 장시간에 걸쳐 발생되는 인체의 陽虛證과 반드시 일치한다고 볼 수 없으나 陽虛證에 대한 실험동물모형으로서 적용할 수 있을 것으로 사료되어 陽虛동물모형의 유발에 hydrocortisone acetate를 사용하였다고 보고하였다.

활성산소류들 (oxygen free radicals)은 분자상태의 산소가 생체내 산화환원 반응의 전자수용체로 이용되므로서 지속적으로 환원되어 가는 중에 생성되는 불완전한 산소의 환원 형태로 superoxide anion (· O_2) 및 hydroxyl radical (· OH), hydrogen peroxide (H_2O_2) 등이 있으며, 이들 중 hydroxyl radical이 가장 강력한 활성을 지니는 것으로 알려져 있다[37,38]. Free radical은 질병의 유발과 면역력의 저하, 발암, 성인병 발생 등 다양한 증상을 나타낸다[39-42]. 그리고 체내에서 세포조직의 손상을 초래하므로 정상적인 생리현상의 발현을 기대하기가 어렵게 되며, 심하게 나타날 때는 생체 전반적인 기능의 저하를 초래하게 된다[43].

冬蟲夏草는 맥각균과 식물 冬蟲夏草菌의 子實體와 그 宿主 및 蝙蝠蛾科 곤충인 蟲草蝙蝠蛾 (*Hepialus armoricanus Oberthur*) 등의 幼蟲屍體의 복합체로서, 곰팡이의 일종인 冬蟲夏草菌이 주로 온도 습도가 높아지는 시기에 살아있는 곤충의 몸속으로 들어가 발육, 증식하면서 기주곤충을 죽이고 얼마 후 子實體를 곤충의 표피에 형성하는 일종의 약용 버섯이다. 원래 冬蟲夏草는 박주나방과의 유충에서 나온 Cerdyceps sinessis를 지칭하는 것이나 오늘날에는 곤충 뿐만 아니라 거미, 균류 등에서 나오는 버섯을 총칭해서 冬蟲夏草라 한다[20-26].

效能 및 主治는 補虛損, 益精氣, 補肺腎, 止喘咳, 止血化痰하여, 病後久虛不復, 自汗盜汗, 陽痿, 遺精, 痰飮喘嗽, 虛喘, 勞嗽, 咳血, 腰膝酸痛에 사용된다. 臨床 응용으로는 주로 병후의 調整과 補益에 사용하여, 病後의 衰弱으로 머리가 흔들리고 식욕이 없으며, 自汗, 貧血 등의 증상이 있을 때, 호흡기의 저항력이

약하고 風寒에 의한 빈번한 感冒에 저항력이 증강된다. 만성 신염, 위경련, 위이완의 환자에게 冬蟲夏草를 항상 복용하면 체질을 강화한다. 그 밖에 抗腫瘤 작용이 있어 폐암과 그 밖의 암이 폐로 전이된 것, 유선암, 임파암, 비인암, 전립선암과 기타 腫瘤가 있고 體質이 虛弱한 자에게 사용한다. 또한 하반신이 무겁고 힘이 없거나, 遺精 등의 腎陽虛의 證狀에 杜冲 淫羊藿 肉蓯蓉 혹은 枸杞子, 山茱萸, 山藥 등을 배합해서 사용한다[20-29,44].

약리작용으로는 기관지의 확장작용, 진정작용, 최면작용, 항균작용, 동물의 장관, 자궁, 심장 등의 근육이완작용, 정맥내 투여에 의한 비특이적 혈압하강작용, 항종유작용, 노화를 지연시키는 작용이 있다[20-23]. 실험연구로 항암작용, 면역기능증강작용 등이 있으나 陽虛모델 동물에서 항산화작용은 찾아 볼 수 없었다.

이에 著者는 hydrocortisone을 이용하여 陽虛證을 유발시킨 動物模型에 冬蟲夏草의 菌絲體와 培養濃縮液을 투여하여 항산화효과 및 체중변화에 미치는 영향을 살펴보았다.

실험동물에 冬蟲夏草 추출물을 일정기간 투여하면서 hydrocortisone을 투여하여 양허증의 모델을 만든 다음 각각의 실험군별로 체중의 변화를 관찰하였을 때 정상군과 冬蟲夏草 투여군간에는 별다른 체중의 변화현상을 관찰할 수 없었으나 hydrocortisone을 투여한 모델동물의 경우는 정상군에 비해서 현저한 체중의 감소현상을 관찰할 수 있었다. 그러나 冬蟲夏草와 hydrocortisone을 병용 투여한 실험군의 경우는 체중이 정상동물 수준으로 회복됨을 볼 수 있었다. 이러한 실험결과는 冬蟲夏草가 양허증에 의해서 나타나는 생리기능의 변화를 정상화시킬 수 있을 것으로 사료된다.

시험관내 실험에서 생체내 산화반응의 매개인자로 알려진 free radical을 생성시키는 xanthine oxidase 활성[45]과 생체 산화반응이 왕성하게 진행될 때 부산물로서 만들어지는 독성인자인 과산화지질의 생성 반응[46]에 미치는 효과를 검토하였을 때 冬蟲夏草 자체로서는 아무런 영향을 미치지 못하였다. 冬蟲夏草의 다양한 약리작용은 시험관내에서는 전혀 반응하지 않는 것으로 보아 체내에서 흡수되어진 다음 대사반응의 1차 과정을 거친 다음 생리활성을 나타내는 것으로 사료된다.

冬蟲夏草 추출물을 실험동물에 10일간 투여한 후 간조직중의 xanthine oxidase 활성 변화를 검토하였을 때 hydrocortisone을 투여한 실험군의 경우 type O 활성이 현저하게 증가되었으며, 형전환비도 유의성 있게 증가하였다. 반면에 冬蟲夏草 추출물과 병용 투여한 실험군은 type O의 활성과 형전환비가 정상동물의 수준으로 저하됨을 관찰할 수 있었다. 이러한 실험결과는 陽虛證 유발약물인 hydrocortisone에 의해 악화된 생체내 반응이 冬蟲夏草에 의해 정상화되고 있음을 알 수 있었다.

과산화지질은 세포막에 다량 존재하는 불포화지방산이 superoxode, hydroxyl radical 또는 외부 유입 독성인자 등에 의해서 산화반응이 이루어질 때 나타나는 부산물이다. 과산화지질 함량의 증가는 곧 조직세포의 손상을 의미하므로 과산화지질 생성이 촉진되면 정상적인 생리현상의 수행에 많은 어려움을 나타내게 된다[46,47]. 陽虛證에 의해 나타나는 기력저하나 면역력 약화 등도 이러한 생체독성인자의 체내 축적에 의해 정상적인 생리기능 수행에 어려움이 나타나므로서 발현되는 증상일 것이다. 冬蟲夏草의 항산화반응을 검정하는 하나의 실험방편으로서 간조직중의 과산화지질 함량에 미치는 효과를 검토하였을 때 hydrocortisone 에 의해 증가하던 과산화지질 함량이 冬蟲夏草를 투여하므로서 정상화됨을 관찰할 수 있었다. 이 실험성적은 冬蟲夏草중에 함유된 항산화성분의 작용에 의해 과산화지질의 생성인자인 free radical의 생성을 억제시키므로서 세포막의 지질 산화반응도 병행하여 억제되므로서 과산화지질의 함량이 감소한 것으로 사료된다.

과산화지질의 생성촉진 반응은 free radical에 의해서 이루어지는 것은 많은 연구보고에 의해서 이미 알려진 사실이다[46]. Free radical은 세포막을 파괴시켜 조직 손상을 유발하지만 이것은 생체내에서 superoxide dismutase나 glutathione proxidase 같은 세포질 효소들에 의해서 해독 반응을 거친 다음 무독화되어지는 반응 메카니즘이 존재하고 있다[12,48]. 따라서 冬蟲夏草의 항산화작용이 free radical의 생성을 억제시키므로 나타나는 작용인지 아니면 해독 반응에도 관여하는 지를 검토할 목적으로 free radical 해독 효소중 대표적인 두 가지 효소 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase 활성에 미치는 효과를 관찰하였다. 독성 유발물질인 hydrocortisone을 투여하였을 때 superoxide dismutase와 glutathione peroxidase 두 효소 모두 정상군에 비해 효소활성이 현저하게 억제되었으나 冬蟲夏草를 병용 투여하였을 때는 모두 회복되는 현상을 나타내었다. 이러한 실험 결과는 冬蟲夏草가 free radical의 생성 반응을 저해하며 해독 반응을 촉진시키므로서 독성의 발현을 최대한 억제시키는 것으로 생각할 수 있다.

한편 free radical 같은 독성인자들의 체내 축적은 곧 바로 세포 수명의 단축을 의미하며 세포 사망에 따른 심한 조직 손상으로 사망을 초래하게 된다[12]. 冬蟲夏草가 hydrocortisone으로 유발된 실험동물의 생존률에 미치는 효과를 검토하였을 때 hydrocortisone에 의해서 현저하게 증가하던 사망률이 冬蟲夏草 투여로 유의성 있게 감소됨을 확인할 수 있었다.

이상의 실험결과들을 종합하여 볼 때 冬蟲夏草는 생체내에서 세포독성 유발인자인 free radical의 생성을 억제시키고 소거 작용을 촉진시키며, 이와 연관되어 체중감소와 사망을 억제시키는 효과를 나타내는 것으로 사료된다.

V. 結 論

冬蟲夏草가 hydrocortisone으로 陽虛證을 유발시킨 모델동물에서 항산화 작용과 관련되어 효과를 나타내는 지를 검토하였다. 冬蟲夏草는 시험관내에서 xanthine oxidase 활성과 형전환비 및 과산화지질 함량에 영향을 주지 않았다. 陽虛證 유발 모델동물에서 증가하던 xanthine oxidase type O 활성과 형전환비 및 과산화지질 함량이 冬蟲夏草 투여에 의해 유의성 있게 감소되었다. 반면에 감소되던 glutathione peroxidase, superoxide dismutase 활성이 거의 정상군 수준에 가깝게 회복되는 양상을 나타내었다. Hydrocortisone에 의해 체중이 감소되었으나 冬蟲夏草를 투여하여 거의 정상화되었으며, 증가하던 사망률이 冬蟲夏草의 투여에 의해 유의성 있게 감소하였다. 그리고 冬蟲夏草 배양농축액의 효과가 균사체에 비해 강한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 冬蟲夏草가 생체내에서 세포독성 유발인자인 free radical의 생성을 억제시키며, free radical의 해독 반응을 촉진시켜 세포손상과 지질의 과산화를 방지하는 효과를 나타냄을 가리킨다.

VI. 參考文獻

1. 김성수. Hydrocortisone acetate로 유발한 陽虛 동물모형에 관한 연구. 대한한의학회지 1986;7(2):103-6.
2. 田金洲. 中醫老年病學. 天津:天津科學技術出版社; 1994, p. 21-3.
3. 尹吉榮. 東醫學의 方法論 硏究, 서울:成輔社; 1983, p. 97-9.
4. 金鎭成. 少陰人 八物君子湯과 升陽益氣湯이 hydrocortisone acetate로 유발된 陽虛證에 미치는 실험적 연구. 大韓韓醫學會誌 1987;7:42-61.
5. 張家慶 등. "陽虛" 動物脫氣核糖核酸合成率和助陽藥作用的硏究. 中醫雜誌 1982;23:224-6.
6. 耿排力 등. 溫陽藥及其有效成分對陽虛動物模型模些免役功能的影響, 中醫雜誌 1983;24:221-4.
7. 金聖洙. 人蔘 및 熟地黃이 Methotrexate로 誘發된 免役反應低下에 미치는 영향. 경희한의대논문집 1986;9:355-65.
8. 施玉華 등. 某些助陽藥對小鼠 hydrocortisone 模型的 作用, 中醫雜誌 1982;2:71-2.
9. Floyd RA. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. *FASEB. J.* 1990;4:2587-97.
10. Fridovich K, McCord JM. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein hemocuprein. *I. J. Biol. Chem.* 1969;244:6049-55.
11. Boll RR, Blanchard CA, Haskell BE. Metabolism of vitamine B6 in the 1-strain mouse. *Arch. Biochem. Biophys.* 1971;147:602.
12. McCord JM. Free radical and inflammation : Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science 1974; 185:529-31.
13. Aebi H. La Catalase erythrocytaire, in : Exposes Annuels de Biochamie Medicale, 29 ieme serie. Paris:Masson and Cie(eds); 1969, p. 139-64.
14. Little C and O'Brien PJ. An intracellular GSH-peroxidase with lipid peroxide substrate. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1968;31:145-50.
15. 余月明 外. 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗衰老硏究. 陝西中醫 1993;14(4):187-8.
16. 許沛虎 外. 中醫藥硏究中有關自由基硏究近況. 中西醫結合雜誌 1995;15(3):185-8.
17. 梁曉春 外. 腎虛,衰老與自由基的關係以及補腎藥對自由基的影響. 中西醫結合雜誌 1990;10(8):511-2.
18. 陳宴珍 外. 腎虛與超氧化物岐化酶關係初探. 中醫雜誌 1989;30(4):42.
19. 申興默, 金吉萱. 命門動氣의 生理作用에 對한 實驗的 硏究-右歸飮과 右歸飮가 肉蓉이 飢餓 白鼠 혈중 호르몬 및 SOD 활성에 미치는 영향. 東醫生理學會誌 1991;6(1):1-23.
20. 육창수. 漢藥의 藥理 · 成分 · 臨床應用. 서울:癸丑文化社; 1982, p. 710-2.
21. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 上海:上海科學技術出版社; 1978, p. 497-8.
22. 李軍德. 抗癌中草藥彩色圖譜. 北京. 1996, p. 94.
23. 王浴生. 中藥藥理與應用. 北京:人民衛生出版社; 1983, p. 357-60.
24. 蕭培根. 中國本草圖錄(6). 香港:常務印刷館; 1989, p. 15.
25. 鬱仁存. 中醫腫瘤學(下). 北京:科學出版社; 1997, p. 213-4.
26. 申佶求. 申氏本草學. 서울:수문사; 1988, p. 143-4.
27. 陳北桓. 增主 本草從新. 台北:文光圖書有限公司; 1986, p. 28.
28. 楊東喜. 本草備要解析. 新竹:國興出版社; 1987, p. 295.
29. 趙學敏. 本草綱目拾遺. 北京:人民衛生出版社; 1983, p. 138-9.
30. 張淑蘭 外. 冬蟲夏草及人工蟲草菌絲抗小鼠 Lewis 肺癌的硏究. 中藥通報 1987;12(2):53.
31. 祝希媛 外. 人工培養冬蟲夏草菌粉對細胞免役的抑制作用. 中西醫結合雜誌 1990;10(8):485-7.
32. Stirpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase : Conversion *in vitro* of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). J. Biol. Chem. 1969;244:3855-63.
33. Paglia ED, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin.*

Med. 1967;70:158-69.
34. Martin JP, Dailey M, Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch. Biochem.* Biophys. 1987;255:329-36.
35. Ohkawa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979;95:351-8.
36. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951;193:265-75.
37. David R. Mechanistic toxicology : Aradicalperspective. J. Pharm. pharmacol. 1989;41:505-11.
38. Simon RH, Scogging CM, Patterson D. Hydrogen peroxide cause the fatal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals. *J. Biol. Chem.* 1981; 266:7181-6.
39. Larry WO, Terry BO. Free radicals, aging and degenerative disease. Alan R. Liss. Inc; 1986, p. 325-71.
40. Milan L, Jozef R, Vilian K, Peter P, Ladislav V. Free radicals in chemistry and biology. CRC Press; 1989, p. 29-31, 283.
41. Feher J, Csomos G, Vereckei A. The free radical theory of aging. Free Radicals Reactions in Medicine. Berlin:Springer-Verlag; 1987, p. 57-9.
42. Barry H. Oxidants and human disease : Some new concepts. *FASEB. J.* 1987; 1:358-64.
43. Cutler RG. Antioxidants, aging and longevity. Free Radicals in Biology. Vol. 6, Academic Press; 1984, p. 371-424.
44. 石洪. 抗癌本草. 長沙:湖南科學技術出版社; 1987, p. 118-9.
45. Beauchamp C, Fridovich I. A mechanism for the production of ethylene from methional : The generation of the hydroxyl radical by xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 1970;245:4641-6.
46. Pryor WA, Stanley TP, Blair E. Autoxidation of polyunsaturated fatty acids(II). Lipids 1976;11:370-9.
47. Pryor WA. Free radical in biology : Involvement of radical reaction in aging and carcinogenesis in medicinal chemistry. Amsterdam:Elservier; 1977, p. 331-61.
48. Froh L, Gunzler WA, Schock HH. Glutathione peroxidase : A selenoenzyme. *FEBS Lett.* 1973;32:132-4.