대한한방내과학회지 제22권 3호(2001년 9월)
Korean J.Orient.Int. Med. 2001;22(3):309-320

흰쥐의 肝損傷에 대한 蔘芪茵蔯湯의 肝 保護效果

이유경, 강재춘

상지대학교 부속 한방병원 간계내과

Protective Effects of Samgiinjin-tang on Liver Injury of Rats

You Kyung Lee, Jae Chun Kang

Dept. of Internal Medicine, Oriental Medicine Hospital of Sangji University

Objectives : This study was done to investigate the protective effects of Samgiinjin-tang on liver injury of rats induced by CCl4 and d-galactosamine.

Methods : All animals were divided into 5 groups, those were normal group(untreated), control group(treated with 0.9% Saline solution), sample Ⅰ group(2,250㎎/㎏ administrated), sample Ⅱ group(4,500㎎/㎏ administrated), Silymarin 200㎎/㎏ administrated group. Liver injury of rats were induced by CCl4 and d-galactosamine, and then the serum transaminases(ALT&AST) alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH) for enzyme activities, liver weight, lipid peroxidation and catalase, glutathione S-transferase(GST) for enzyme activities were measured.

Results : The inhibitory effects on the serum ALT, AST activities in liver injury of rats induced by CCl4 were noted in both sample Ⅰ and sample Ⅱ group. The inhibitory effects on the serum ALP, LDH activities and the Lipid peroxidation of Mitochondria & Cytosol were noted in only sample Ⅱ group. The decreased effects on the GST activities of Homogenate & Cytosol were inhibited in both sample Ⅰ and sample Ⅱ groups. The decreased effects on the GST activities of Mitochondria & Microsome were inhibited in sample Ⅱ group. The inhibitory effects of the serum ALT, AST, LDH activities in liver injury of rats induced by d-galactosamine were noted in both sample Ⅰ and sample Ⅱ groups. In serum AST activities, sample Ⅱ group.

Conclusions : Samgiinjin-tang has protective effects against liver injury of rats induced by CCl4 and d-galactosamine. So it is required to study about the actions of mutual relation of medicines and patho-mechanism by experiment.

Key Word : Samgiinjin-tang, liver injury, CCl4, d-galactosamine..

Ⅰ. 緖 論

肝臟은 인체에서 가장 큰 實質性 臟器로 右季肋部의 橫膈膜 下面에 접하며 각종 영양대사 및 혈액에 관련된 작용을 담당하고, 특히 생체에 대해 유해한 이물질을 무해한 것으로 바꾸는 해독작용을 主한다[1]. 韓醫學에서는 肝의 주요 생리기능을 主疏泄, 主藏血로 보아 이러한 기능이 太過나 不足으로 치우치게 되면 疏泄失常하고 血不歸臟하여 肝風內動, 頭目眩暈, 筋脈拘攣, 氣滯血瘀, 脹悶疼痛, 抑鬱不舒 或 煩燥易怒 및 각종 目疾 등이 발생된다고 한다.[2] 문헌상 肝과 관련된 질환으로는 肝熱, 黃疸, 脇痛, 積聚, 鼓脹, 酒傷, 勞倦傷 등을 찾아볼 수 있는데[1,2] 이들 肝病을 일으키는 원인은 六淫七情, 酒毒, 氣鬱, 瘀血, 房室過多, 飮食失節, 體質虛弱등이 있다.[1,3] 그 중 六淫의 風, 七情의 怒, 恐, 憂, 驚, 不內外因의 飮食, 酒毒, 勞役過多 등이 중요하고[1] 이는 양의학적으로 肝疾患을 일으킬 수 있는 원인인 바이러스의 감염, 중독성 약물, 지속적인 음주, 면역질환, 담도폐쇄, 대사장애와 유사하다. 특히 현대인들의 경우, 안정된 생활과 풍부한 식생활로 인하여 고지방식, 고칼로리 위주의 식사와 알콜 및 영양소의 불균형한 편중 섭취 등으로 高脂血症, 糖尿病, 脂肪肝, 알콜性 肝疾患 등이 증가하고 있으나[1,4,5] 이들 질병의 치료에 대한 약제개발은 아직 미흡한 상태로 다양한 연구가 요구된다.

蔘芪茵蔯湯은 肝膽疾患에 사용되는 處方으로, 轉建平等[6]이 脂肪肝 33예에 이용하여 치료효과를 관찰하였고 그 處

접수 : 2001년 8월 30일 채택 : 2001년 9월 27일
교신저자 : 이유경 (강원도 원주시 우산동 283, 전화 : 033-741-9382, Fax : 033-732-2124, 핸드폰 : 011-9782-8538, E-mail : youdyung@hanmail.net)

方이 丹蔘, 黃芪, 茵蔯, 柴胡, 當歸, 鷄血藤, 白朮, 牛膝, 澤瀉, 山楂, 枸杞子, 仙靈脾, 枳殼, 大黃으로 구성되어 脾腎을 健運하며, 瘀血을 去하고, 痰濕을 化하며, 腑氣를 通하게 하여 肝의 정상대사를 회복시키는 기능이 있어 肝損傷에 대한 보호효과가 있을 것으로 사료된다. 이에 著者는 蔘芪茵蔯湯이 肝損傷에 미치는 보호효과에 대하여 검토하고자 四鹽化炭素(CCl_4)로 유발된 肝損傷과 d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대한 肝 보호효과를 혈액중 ALT와 AST, ALP 및 LDH 효소활성도와 肝의 지질과산화도, 그리고 肝의 GST 효소활성도를 지표로 실험하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험재료

1) 약재

본 실험에서 사용한 약재는 시중 건재약국에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였으며 실험에 사용한 蔘芪茵蔯湯의 1貼 분량은 丹蔘, 黃芪, 茵蔯 各 15.0g, 柴胡, 當歸, 鷄血藤 各 8.0g, 白朮, 牛膝, 澤瀉, 山楂, 枸杞子, 仙靈脾, 枳殼 各 5.0g, 大黃 2.0g하여 총 106.0g이다.

2) 검액의 조제

蔘芪茵蔯湯 5貼 분량 530g을 물로 2시간씩 2회 가열 추출한 후 여과하고 감압 농축하여 동결건조기로 건조시킨 분말 135.2g(收率 25.5%)을 얻어 본 실험에 필요로 하는 농도로 희석하여 사용하였다.

3) 실험동물

실험에 사용한 실험동물로는 중앙동물사육장에서 구입한 Sprague-Dawley계 흰쥐(♂) 체중 180~220g을 사용하였으며, 사료로는 삼양유지사료(주)의 고형사료로 사육하였고, 물은 충분히 공급하였다. 실험은 실험동물을 실험실 환경에 2주간 순응시킨 후에 사용하였고, 특별한 조건이 없는 한 24±2 ℃에서 실시하였다.

2. 실험방법

1) 四鹽化炭素 유발 肝損傷에 미치는 영향

흰쥐 1群을 6마리로 하여 검액 2,250mg/kg 및 4,500mg/kg을 1일 1회 5일간 經口投與하고 최종투여 3시간 후에 olive oil에 용해시킨 20% 四鹽化炭素 1.0ml/100g을 經口投與하였다.7 四鹽化炭素 투여 24시간 후에 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 血淸을 분리하였고, 對照群에는 생리식염수를 투여하였으며, 陽性比較藥物로는 silymarin 200mg/kg을 1일 1회 5일간 經口投與하여 비교관찰하였다.

2) d-Galactosamine 유발 肝損傷에 대한 작용

흰쥐 1群을 6마리로 하여 검액 2,250mg/kg과 4,500mg/kg을 각각 1일 1회 5일간 經口投與하고 최종투여 30분 후에 d-galactosamine 250mg/kg을 腹腔內 투여 후 24시간 동안 절식시키고 ether로 가볍게 마취시킨 다음 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 血淸을 분리하였고, 陽性比較藥物로는 silymarin 200mg/kg을 1일 1회 5일간 經口投與하여 비교관찰하였다.

3) 血淸中 효소활성도 측정

(1) Transaminase(ALT & AST) 활성도의 측정

ALT와 AST 효소활성도의 측정은 Reitman & Frankel의 방법[8]에 따라 ALT, AST kit시약(아산제약)을 사용하여 측정하였다. 즉, ALT 또는 AST 기질을 1.0ml 씩 시험관에 넣고 37℃ 수욕상에서 5분간 가온한 후 증류수로 10배 희석된 血淸 0.2ml 씩을 시험관에 가한 후 37℃ 수욕상에서 ALT의 경우 60분, AST의 경우 30분간 반응시킨 다음 발색시약 2,4-dinitrophenylhydrazine을 1.0ml 씩 가하고 실온에서 20분간 방치한 다음 0.4-NaOH 시액 10 ml를 넣어 반응을 중지시켰다. 반응중지 30分 후에 505nm에서 증류수를 맹검으로 하여 표준액, 검액 및 對照群의 흡광도를 측정하여 표준액의 검량곡선으로부터 효소의 활성단위(Karmen unit)를 환산하여 비교관찰하였다.

(2) Alkaline phosphotase(ALP) 활성도의 측정

血淸중 ALP 효소활성도는 Kind-King法[9]에 준하여 ALP-S kit시약(아산제약)을 사용하여 측정하였다. 기질완충액 2.0ml를 시험관에 취하고 37℃에서 5분간 가온하고 血淸 0.05ml를 가한 다음 37℃에서 정확히 15분간 방치한 다음 정색시약 2.0ml를 가하고 잘 혼합한 후 실온에서 10분이상 방치한 다음 60분 이내에 blank를 대조로 500nm에서 흡광도를 측정하여 표준액의 흡광도로부터 ALP 효소활성도(K-A unit)를 환산하여 비교관찰하였다.

(3) Lactic dehydrogenase(LDH) 활성도의 측정

血淸중 LDH 효소활성도의 측정은 젖산기질법[10]을 이용하여 LDH-LQ kit 시약(아산제약)을 사용하여 측정하였다. 즉, 기질정색액 1.0ml를 시험관에 취하고 37℃에서 5분간 가온하고 40배

희석한 血淸 0.05ml를 가하고 잘 혼합한 후 37℃에서 정확히 10분간 방치한 다음 희석반응 정지시액 3.0ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 60분이내에 570nm에서 blank를 대조로 하여 흡광도를 측정하고 표준액의 흡광도로부터 LDH의 효소활성도(Wroblewski unit)를 환산하여 비교관찰하였다.

4) 肝 均質化物의 지질과산화 형성에 미치는 작용

채혈이 종료된 흰쥐의 복부를 절개하여 간문맥에 polyethylene tube를 삽입하여 4℃ 0.9% NaCl 용액으로 肝을 세척한 후 적출하여 均質化하였다. 肝 均質化物을 0.9% NaCl 용액으로 세척하고 다시 肝(濕重量)과 KCl용액의 比가 1:9의 비율로 되도록 1.15% KCl용액을 가하여 glass homogenizer로 다시 均質化하였다. 지질과산화형성 억제효과는 T. Yokozawa 등의 방법[11]을 이용하여 thiobarbituric acid (TBA)-reactive substance 법에 따라 실시하였다. 즉 phosphate 완충액(50mM, pH 7.4) 0.8ml와 30mM H_2O_2 0.3ml를 각각 시험관에 옮기고 肝 均質化物 0.5ml를 가하여 혼합하였다. 뚜껑을 막고 37℃에서 20분간 incubation시키고 반응정지액으로 TBA/thiochloric acid (TCA)/HCl(5% TBA, 15% TCA, 0.25N HCl) 4.0ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 냉수 중에서 10분간 빙냉시키고 3,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상청액을 535nm에서 흡광도를 측정하여 지질과산화물 형성억제효과를 산출하였다.

5) 肝 Homogenate 중 효소활성 측정

(1) 肝 및 細胞 小器官의 분리

흰쥐에서 적출한 肝 組織 1.0g을 취하여 1.5% KCl로 washing한 후 0.05mM EDTA가 들어있는 0.05M phosphate buffer(pH7.4)로 homogenation하여 肝 homogenate로 하였다. 그리고, 다시 肝組織 3g을 5배 용량의 A용액(10mM Tris, 0.21M mannitol, 0.07M sucrose, 0.1mM EDTA)에 homogenation한 후 600×g로 10분간 원심분리한 후 상등액을 8000×g로 10분간 원심분리하여 얻은 침전을 mitochondria분획으로 하였다. 상등액을 다시 100000×g로 90분간 원심분리하여 침전을 microsome분획으로 하고 상등을 cytosol분획으로 하였다. mitochondria 분획과 microsome분획은 각각 0.1M phosphate buffer 15ml에 현탁하여 사용하였다.

(2) Glutathione S-transferase (GST) 효소활성 측정

Habig 등의 방법에 준하여 2.5mM 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 1ml, 5mM Glutathione 0.5ml, 0.25mM phosphate buffer(pH6.5) 0.9ml를 취한 반응액을 25℃에서 5분간 preincubation 시킨 후 효소원(肝 각 분획물) 100㎕를 각각 가하여 340nm에서 3분간 흡광도를 측정하였다.[12]

3. 통계학적 분석

모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 자료분석은 Student's t-test를 이용하여 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

III. 實驗結果

1. 四鹽化炭素 유발 肝損傷에 대한 효과

1)血淸中 Transaminase(ALT & AST)효소활성도에 대한 효과

흰쥐에 四鹽化炭素를 처치하면 血中의 ALT 活性은 818.3±95.3 Karmen unit로 四鹽化炭素 非處置 正常群의 血淸중 ALT 활성인 438.2±7.4 Karmen unit에 比하여 $p<0.001$의 유의한 ALT 활성의 증가를 보였다. 검액 2,250mg/kg을 투여한 실험군(이하 Sample Ⅰ) 및 4,500mg/kg을 투여한 실험군(이하 Sample Ⅱ)에서는 각각 395.0±12.9 Karmen unit와 361.9±18.3 Karmen unit로 $p<0.001$의 유의한 血淸중 ALT 효소활성의 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 341.3±24.5 Karmen unit로 $p<0.001$의 유의한 ALT 효소활성도의 상승억제효과를 보였다.(Table 1) 또한, 血淸중 AST 활성은 正常群의 448.7±10.7 Karmen unit에 比하여 對照群이 1038.3± 110.3 Karmen unit로 $p<0.001$의 유의한 AST 활성의 상승효과를 보였으며 Sample Ⅰ및 Sample Ⅱ 에서는 각각 357.6±9.5 Karmen unit와 237.3±26.4 Karmen unit로 正常群 이하로 AST 활성도가 감소하였으며 각각 對照群에 比하여 $p<0.001$의 유의한 AST 효소활성 상승억제효과를 나타내었다. 陽性比較藥物 sillymarin 200mg/kg 投與群에서는 276.0±19.3 Karmen unit로 對照群에 比하여 $p<0.001$의 유의한 AST 상승억제효과를 보여 주었다.(Table 2)

2)血淸中 Alkaline Phosphatase(ALP) 효소활성도에 대한 효과

四鹽化炭素로 처치한 對照群의 血淸중 ALP 효소활성도는 116.5±10.6 K-A unit로 非處置 正常群 44.5±2.7 K-A unit에 比하여 $p<0.001$의 유의한 ALP 효소활성도의 증가를 관찰할 수 있었다. Sample Ⅱ 에서는 73.7±4.2

Table 1. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum ALT Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	--	438.2±7.4[a]	-
Control	-	818.3±95.3###	-86.7[b]
Sample Ⅰ	2,250	395.0±12.9***	111.4[c]
Sample Ⅱ	4,500	361.9±18.3***	120.1[c]
Silymarin	200	341.3±24.5***	125.5[c]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p < 0.001)
*; Significantly different from the control value(***:p<0.001)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

Table 2. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum AST Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Aspartate Aminotransferase Activities (Karmen unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	--	448.7±10.7[a]	-
Control	-	1038.3±110.3###	-131.4[b]
Sample Ⅰ	2,250	357.6±9.5***	115.4[c]
Sample Ⅱ	4,500	237.3±26.4***	135.9[c]
Silymarin	200	276.0±19.3***	129.3[c]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p < 0.001)
*; Significantly different from the control value(***:p<0.001)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

Table 3. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum ALP Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Serum Alkaline Phosphatase Activity (K-A unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	--	44.5±2.7[a]	-
Control	-	116.5±10.6###	-161.8[b]
Sample Ⅰ	2,250	97.6±14.2	26.3[c]
Sample Ⅱ	4,500	73.7±4.2**	59.4[c]
Silymarin	200	84.2±4.5*	44.8[c]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p < 0.001)
*; Significantly different from the control value(**:p<0.01, *:p<0.05)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

K-A unit로 對照群에 比하여 p<0.01의 유의한 ALP 활성도 상승억제효과를 관찰할 수 있었으며, Sample Ⅰ에서는 97.6±14.2 K-A unit로 對照群에 比하여 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg投與群에서는 84.2±4.5 K-A unit로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의성이 있는 억제효과가 인정되었다.(Table 3)

3) 血淸中 Lactic Dehydrogenase (LDH) 활성도에 미치는 효과

四鹽化炭素로 처치한 對照群의 血淸중 LDH 효소활성도는 1720.6±67.5 Wroblewski unit로 非處置群의 血淸중 LDH 활성인 1171.2±218.7 Wroblewski unit에 比하여 p<0.05의 유의한 LDH 활성의 증가를 보였다. Sample Ⅰ에서는 별다른 변화를 관찰할 수 없었고, Sample Ⅱ 에서는 1655.8±83.5 Wroblewski unit로 對照群에 比하여 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 1646.4±129.9 Wroblewski unit로 다소 억제시키는 경향을 보여 주었다.(Table 4)

4) 흰쥐 肝 지질과산화에 미치는 효과

肝의 지질과산화 정도는 TBARS법에 따라 535nm에서의 흡광도 변화로 하였으며, 肝 均質化物 및 肝의 mitochondria, cytosol로 분리하여 각각 측정하였다. 우선 肝 均質化物에 있어서 四鹽化炭素 處置 對照群의 肝에서의 지질과산화는 0.117±0.017로 非處置 正常群 0.064±0.008에 比하여 p<0.05의 유의한 흡광도의 증가를 나타내어 지질과산화가 촉진됨을 알 수 있었다. Sample Ⅰ 및 Sample Ⅱ 에서는 0.137±0.035와 0.111±0.003로 對照群에 比하여 별다른 차이를 발견할 수 없었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 0.123±0.027로 유의성이 인정되지 않았다. 그

Table 4. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum ALP Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Serum Alkaline Phosphatase Activity (K-A unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	--	1171.2±218.7[a)]	-
Control	-	1720.6±67.5#	-46.9[b)]
Sample Ⅰ	2,250	1714.0±105.7	1.2[c)]
Sample Ⅱ	4,500	1655.8±83.5	11.8[c)]
Silymarin	200	1646.4±129.9	13.5[c)]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(#:p < 0.05)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

Table 5. Effects of *Samgiinjin Tang* on Inhibitory Effect of Lipid Peroxidation in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats by TBARS assay

Groups	Dose (mg/kg/ day, p.o)	TBARS (absorbance, 535nm)		
		Homogenate	Mitochondria	Cytosol
Normal	-	0.064±0.008[a)]	0.053±0.004[a)]	0.031±0.011[a)]
Control	-	0.117±0.017#	0.482±0.008###	0.289±0.057###
Sample Ⅰ	2,250	0.137±0.035 (-37.7)[c)]	0.513±0.038 (-7.2)[c)]	0.248±0.02 (15.9)[c)]
Sample Ⅱ	4,500	0.111±0.003 (11.3)c)	0.435±0.005* (11.1)[c)]	0.176±0.028* (43.7)c)
Silymarin	200	0.123±0.027 (-11.2)[c)]	0.409±0.009* (17.1)[c)]	0.156±0.033* (51.7)[c)]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(#:p < 0.05 and ###:p < 0.001)
; Significantly different from the control value(:p<0.05)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

리고, 肝 mitochondria 분획에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 지질과산화는 0.482±0.008로 非處置 正常群 0.053±0.004에 比하여 p<0.001의 유의한 흡광도의 증가를 나타내어 지질과산화가 촉진됨을 알 수 있었다. Sample Ⅰ에서는 별다른 영향을 미치지 못하였고, Sample Ⅱ 에서는 0.435±0.005로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의한 지질과산화를 억제시킴을 알 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 0.409±0.009로 對照群에 比해 p<0.05의 유의성이 인정되었다. 또한, cytosol 분획에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 지질과산화는 0.289±0.057로 非處置 正常群 0.031±0.011에 比하여 p<0.001의 유의한 흡광도의 증가를 나타내어 지질과산화가 촉진됨을 알 수 있었다. Sample Ⅰ 에서는 0.248±0.020로 對照群에 比해 다소 억제시키는 경향을 나타내었고, Sample Ⅱ 에서는 0.176±0.028로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의한 지질과산화 억제효과가 관찰되었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 0.156±0.033으로 p<0.05의 유의한 肝 지질과산화 억제활성을 나타내었다.(Table 5)

5) 흰쥐 肝 glutathione S-transferase 효소활성에 미치는 효과

肝 均質化物에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 GST 효소활성도는 16.3±0.8mU/ml로 非處置 正常群 31.6±1.4mU/ml에 比하여 p<0.001의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample Ⅰ 및 Sample Ⅱ에서 각각 23.0±2.4mU/ml와 28.4±0.8mU/ml로 對照群에 比하여 p<0.01과 p<0.001의 유의한 감소억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 20.5±0.8mU/ml로 p<0.05의 유의성이 인정되었다. 그리고, mitochondria 분획에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 GST 효소활성도는 4.5±0.4mU/ml로 非處置 正常群 10.7±0.2mU/ml에 比하여 p<0.001의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample Ⅰ에서는 다소 감소를 억제시키는 경향을 보이나 유의성은 없었고, Sample Ⅱ에서는 5.5±0.2mU/ml로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의한 감소억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 6.2±0.7mU/ml로 p<0.05의 유의한 감소억제효과를 나타내었다.

Microsome 分劃에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 GST 酵素活性度는 3.5±0.5mU/ml로 非處置 正常群 13.1±0.5mU/ml에 比하여 p<0.001의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample Ⅰ에서는 다소 감소를 억제시키는 경향을 보이나 유의성은 없었고, Sample Ⅱ에서는 5.8±0.6mU/ml로 對照群에 比하여 p<0.01의 유의한 감소억제효과를 나타내었다. 陽性比較藥物 silymarin

Table 6. Effects of *Samgiinjin Tang* on Inhibitory Effect of Lipid Peroxidation in CCl_4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	TBARS (absorbance, 535nm)			
		Homogenate	Mitochondria	Microsome	Cytosol
Normal	-	31.6±1.4[a]	10.7±0.2[a]	13.1±0.5[a]	88.6±4.8[a]
Control	-	16.3±0.8###	4.5±0.4###	3.5±0.5###	53.1±5.8###
Sample Ⅰ	2,250	23.0±2.4*** (43.9)[c]	4.9±0.1 (6.5)[c]	4.9±1.1 (14.6)[c]	55.8±2.8 (7.6)[c]
Sample Ⅱ	4,500	28.4±0.8*** (78.9)[c]	5.5±0.2* (16.1)[c]	5.8±0.6** (24)[c]	63.8±2.0 (30.1)[c]
Silymarin	200	20.5±0.8* (27.5)[c]	6.2±0.7* (27.4)[c]	6.7±0.9*** (33.3)[c]	61.1±3.2 (22.5)[c]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p〈0.001)
; Significantly different from the control value(:p<0.05, **:p<0.01 and ***:p<0.001)
a: mU/ml = (⊿A340nm/min)/6.22×10-3 ×assay dilution×sample dilution
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

Table 7. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum ALT Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	274.7±8.0[a]	-
Control	-	887.4±31.6###	-223.0[b]
Sample Ⅰ	2,250	512.6±82.1***	61.2[c]
Sample Ⅱ	4,500	377.7±18.6***	83.2[c]
Silymarin	200	703.1±51.7**	30.1[c]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p〈0.001)
*; Significantly different from the control value(**:p<0.01 and ***:p<0.001)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

200mg/kg 投與群에서도 6.7±0.9mU/ml로 p<0.01의 유의성이 인정되었다. 그리고, cytosol 분획에서의 四鹽化炭素 處置 對照群의 GST 효소활성도는 53.1±5.8mU/ml로 非處置 正常群 88.6±4.8mU/ml에 比하여 p<0.001의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample Ⅰ및 Sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 다소 감소를 억제시키는 경향을 나타내었으나 유의성은 없었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 유의한 肝의 GST 효소활성 감소 억제효과가 없었다.(Table 6)

2. d-Galactosamine 유발 肝損傷에 대한 효과

1)血淸中 Transaminase(ALT & AST)효소활성도에 대한 효과

d-Galactosamine 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血淸중 transaminase 활성도에 미치는 검액의 효과를 실험한 결과, d-Galactosamine 處置 對照群의 血淸중 ALT 활성은 887.4±31.6 Karmen unit로 非處置 正常群의 血淸중 ALT 효소활성도 274.7±8.0 Karmen unit에 比하여 p<0.001의 유의한 ALT 효소활성의 증가를 보였다. Sample Ⅰ 및 Sample Ⅱ에서는 512.6±82.1 Karmen unit와 377.7±18.6 Karmen unit로 對照群에 比하여 각각 p<0.001의 유의한 상승억제효과가 인정되었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서의 ALT 효소활성은 703.1±51.7 Karmen unit로 p<0.01의 유의한 ALT 상승억제효과를 보였다.(Table 7)

또한, 血淸중 AST 활성은 d-galactosamine 非處置群 正常群의 439.5±21.1 Karmen unit에 比하여 d-galactosamine 處置 對照群은 1167.2±100.1 Karmen unit로 p<0.01의 유의한 AST 활성의 상승효과를 보였다. Sample Ⅰ에서는 1043.7±118.6 Karmen unit로 對照群에 比하여 억제시키는 경향을 보이나 유의성은 없었고, Sample Ⅱ에서는 707.7±58.9 Karmen unit로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의한 AST 활성도 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 698.6±25.6 Karmen unit로 p<0.01의 유의한 AST 상승억제효과를 보여 주었다.(Table 8)

2) 血淸 중 Lactic Dehydrogenase (LDH) 활성도에 미치는 효과

d-Galactosamine 處置로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血淸중 LDH 활성도에 미치는 검액의 효과를 실험한 결과, d-Galactosamine 處置 對照群의 血淸중 LDH 효소활성 8840.5±702.4 Wroblewski unit에 比하여 d-galacto-

Table 8. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum AST Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	439.5±21.1[a)]	-
Control	-	1167.2±100.1##	-165.6[b)]
Sample Ⅰ	2,250	1043.7±118.6	17.0[c)]
Sample Ⅱ	4,500	707.7±58.9*	63.1[c)]
Silymarin	200	698.6±25.6**	64.4[c)]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(##:p < 0.01)
; Significantly different from the control value(:p<0.05 and **:p<0.01)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

Table 9. Protective Effects of *Samgiinjin Tang* on Serum AST Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Groups	Dose (mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	4612.7±205.2a)	-
Control	-	8840.5±702.4###	-91.7[b)]
Sample Ⅰ	2,250	5943.1±407.6***	68.5[c)]
Sample Ⅱ	4,500	4948.7±495.1***	92.1[c)]
Silymarin	200	4107.7±549.3***	111.9[c)]

a) Values are means±S.E. of 6 rats.
#; Significantly different from the normal value(###:p<0.001)
*; Significantly different from the control value(***:p<0.001)
b) Therapeutic rates
(Normal-Control)÷(Normal)×100
c) Therapeutic rates
(Control-Sample)÷(Control-Normal)×100

samine 非處置 正常群은 4612.7±205.2 Wroblewski unit로 $p<0.001$의 유의한 LDH 활성의 증가를 보였다. Sample Ⅰ 및 Sample Ⅱ에서 각각 5943.1±407.6 Wroblewski unit와 4948.7±495.1 Wrobleski unit로 對照群에 比하여 각각 $p<0.001$의 유의한 억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 4107.7±549.3 Wroblewski unit로 $p<0.001$의 유의한 LDH 상승억제효과가 인정되었다.(Table 9)

Ⅳ. 考 察

본 실험에 사용된 蔘芪茵蔯湯은 肝膽疾患에 사용되는 處方으로, 轉建平等이 33예의 脂肪肝 患者에게 사용하여 그 치료효과를 관찰하였다.[6] 본 方劑의 구성을 살펴보면 丹蔘, 黃芪, 茵蔯을 君藥으로 하여 柴胡, 當歸, 鷄血藤, 白朮, 牛膝, 澤瀉, 山楂, 枸杞子, 仙靈脾, 枳殼, 大黃으로 구성되어 있으며, 각각의 藥物의 性味, 歸經 및 效能은 다음과 같다. 丹蔘은[13,14] 그 性이 微寒無毒하고 味苦하며 心, 肝經의 血分으로 入하여 血中의 鬱熱을 淸泄하여 活血祛瘀, 凉血消癰, 除煩安神, 經血通利하는 작용이 있어 임상에서 血熱瘀血에 널리 응용된다. 黃芪 는[13,15] 그 性은 溫無毒하고 味甘하여 肺, 脾經으로 入하며 氣虛를 治療하는 要藥으로 補脾升陽, 益胃固表, 益氣升陽, 利水退腫, 托瘡生肌의 效能 및 補肝, 免疫增强 작용도 있다. 茵蔯은[13,14] 性은 微寒無毒하고 味苦하며 脾, 胃, 肝, 膽經으로 入하여 淸利濕熱의 效能으로 膽汁의 分泌排出을 촉진하여 黃疸을 치료하는 要藥이다. 또한 水濕을 滲利排泄하여 小便通利의 效能도 있어 濕熱이 내부에 鬱滯하여 발생하는 身熱, 小便短赤, 濕瘡으로 인한 瘙痒 등의 증상에도 사용되며 최근 임상에서는 黃疸型 및 非黃疸型 傳染性肝炎과 膽囊炎등의 치료에 효과가 인정되었다.[16] 柴胡는[13,15] 그 性은 微寒無毒하고 味苦하며 肝, 膽經으로 入하여 和解退熱하여 少陽, 半表半裏의 邪氣를 淸하게 하고 肝氣鬱結을 散하는 效能이 뛰어나 氣의 機能이 순조롭게 작용하지 못하기 때문에 생기는 胸脇脹滿, 頭暈目眩을 치료하며, 肝膽淸陽의 氣를 升提하여 氣機阻滯를 散하는 작용도 한다. 當歸는[13] 그 性은 溫無毒하고 味甘辛하며 心, 肝, 脾經으로 入하여 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸하여 모든 血證을 치료하며 血病에 要藥이 되며 婦人의 妙藥이다. 鷄血藤은[13] 그 性은 溫無毒하고 味苦微甘하며 肝, 腎經으로 入하여 行血補血하여 婦女의 月經不調 및 痛經에 用하고 舒筋活絡시키는 效能이 있어 風寒濕邪가 經絡에 阻滯되거나, 血虛로 인한 肢體麻木, 筋脈拘攣, 關節疼痛 등을 치료한다. 白朮은[13] 그 性은 溫無毒하고 味苦甘하며 脾, 胃經으로 入하여 補脾益胃, 燥濕和中의 效能으로 脾胃를 培保하는 要藥이며 특히 脾陽不振으로 運化가 失職하여 水濕이 化하지 못한 痞滿, 泄瀉, 痰飮, 水腫 등에 응용할

수 있다. 牛膝은[13] 그 性은 平無毒하고 味苦酸하며 肝, 腎經으로 入하는데 苦味는 泄降하므로 肝腎經에 들어가 活血祛瘀, 引血下行하여 婦人科의 血瘀證에 常用한다. 活血作用은 關節을 通利시키고 肝腎을 補養하여 强筋骨하여 風濕性 關節痺痛과 肝腎不足에 의한 腰膝疲痛, 筋骨無力에 응용한다. 澤瀉는[13] 그 性은 寒無毒하고 味甘하며 腎, 膀胱經으로 入하여 利水滲濕, 泄熱하여 濕熱內蘊이나 腎臟의 火가 盛한증에 다용한다. 山楂는[13] 그 性은 微溫無毒하고 味酸甘하며 脾, 胃, 肝經으로 入하여 消食積, 散瘀血, 驅涤蟲하는데 특히 脂肪氣가 많은 肉食積滯의 要藥이다. 枸杞子는[13,15] 性은 寒無毒하고 味甘하며 肝, 腎經에 入하여 滋腎生精하고, 補肝하여 養肝血하여 明目하므로 肝腎을 補益하는 要藥이 된다. 仙靈脾는[13] 그 性은 溫無毒하고 味辛甘하며 肝, 腎經으로 入하여 補腎壯陽, 祛風除濕하는 效能이 있다. 枳殼은[13] 그 性은 凉無毒하고 味苦辛하며 肺, 脾, 大腸經으로 入하여 破氣, 行痰, 消積한다. 大黃은[13] 그 性은 寒無毒하고 味苦하며 脾, 胃, 大腸, 肝, 心包經으로 入하여 瀉熱通腸, 凉血解毒, 逐瘀經痛하는데 그중 血分에 들어가 瘀血 및 血分熱을 除去하는 작용으로 實熱火毒으로 발생하는 癰瘡腫痛, 頭痛, 咽喉腫 및 實熱로 인한 黃疸水腫에도 응용할 수 있다. 이들 藥物 중 丹蔘과 當歸는 强絮, 降濁의 藥物로 丹蔘의 活血作用과 當歸의 補血作用이 合하여 血量을 조절해줌으로 肝藏血機能을 돕고[17] 丹蔘, 茵蔯, 大黃은 血淸中 빌리루빈 수치를 낮춰주며[15] 黃疸는 當歸와 배합되어 益氣生血 작용을 증가시키고, 白朮과 배합되어 補氣健脾 작용이 강해져 氣虛로 脾胃機能이 약해진 것을 치료한다.[17] 柴胡는 肝氣鬱結을 疏散시키고 淸氣를 升提시키며 枳殼은 氣를 循環시키고 積滯를 消除, 濁氣를 下降시키는데 柴胡와 枳殼이 配伍되어 肝脾를 調和시키고 氣의 작용을 조절해준다.[17] 茵蔯과 柴胡는 四鹽化炭素로 유발된 肝損傷에 보호효과가 있으며, 柴胡, 澤瀉, 山楂는 抗脂肪肝藥物로 작용하고 茵蔯, 枳殼, 大黃은 退黃의 작용이 있으며 柴胡, 大黃, 山楂, 白朮은 암모니아 수치를 낮춰준다.[15] 따라서 蔘芪茵陳湯은 구성하는 藥材들의 효능으로 보아 淸熱利濕, 疏肝解鬱시키는 茵陳, 柴胡에 補氣健脾 시키는 黃蔗, 白朮을 加하여 肝의 疏泄機能을 돕고 丹蔘, 當歸, 鷄血藤으로 活血補血하여 肝藏血의 기능을 조절해주며 牛膝, 枸杞子, 仙靈脾 등의 補肝腎 藥物을 加味하여 滋補肝腎 시킴으로써 脾腎을 健運하며, 瘀血을 去하고, 痰濕을 化하며, 腑氣를 通하게 하여 肝의 정상대사를 회복시켜, 肝脾不和나 肝腎不足이 오래되어 생기는 脾腎兩虛에 의한 脂肪肝이나 慢性肝疾患에 그 치료효과가 있을 것으로 사료된다

肝機能改善을 나타내는 藥物에 대한 검색법은 여러 연구자들에 의하여 보고되어 널리 이용되고 있으며, 대표적으로 四鹽化炭素, 에탄올, d-galactosamine, ethionine, aflatoxin, chloroform, α-naphthylisothiocyanate(ANIT) 등 藥物을 사용하여 肝損傷을 유발시켜 병태모델을 작성하여 이용하고 있다.[7,18-26] 損傷된 肝으로부터 혈액에 방출된 肝의 효소활성도 측정은 肝毒性 연구에 있어서 가장 유용한 방법 중 하나로서 血淸중 ALT, AST, ALP, LDH 등의 효소활성도를 측정한다. 또한 肝 중의 catalase, GST 효소활성도 및 肝 중의 지질과산화물량과 肝組織 변화를 조직학적 검토 등을 통하여 평가한다. 우선 급성 肝損傷을 유발시키기 위하여 흰쥐에 四鹽化炭素를 經口投與하였으며, 四鹽化炭素에 의한 독성기전은 四鹽化炭素가 肝의 활면소포체에 존재하는 약물대사효소인 cytochrome P-450 system에 의하여 trichloromethyl radical($\cdot CCl_3$)로 대사되어 유발되기 시작하여 trichloromethyl radical은 산소와 결합하여 trichloromethylperoxy radical($\cdot OOCl_3$)을 형성하거나 불포화지방으로부터 수소원자를 끌어내 lipid radical을 생성하여 지질의 과산화 등을 일으키며 단백질이나 지방과도 공유결합을 형성한다. 한편, 이러한 반응성이 높은 radical들은 cytochrome P-450 자체와도 결합하여 소포체내의 이들 효소들을 파괴시켜 세포손상을 일으키는 것으로 알려져 있다.[18,27-29] 따라서, 검액 蔘芪茵蔯湯 물추출물을 前投與하고 四鹽化炭素를 投與하여 검액에 의한 肝損傷保護效果를 검토하였다. 우선 血淸 중 四鹽化炭素 處置에 의한 ALT 및 AST 효소활성도의 상승은 肝毒性으로 인한 간세포의 괴사와 간조직의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 血中으로 유리되어 높은 활성을 나타내는 것이다.[30] 본 실험에서도 생리식염수를 투여하고 四鹽化炭素를 투여한 對照群에서는 四鹽化炭素 非處置 正常群의 438.2±7.4 Karmen unit와 448.7±10.7 Karmen unit에 比하여 ALT 및 AST 효소활성에 있어 818.3±95.3 Karmen unit와 1038.±110.3 Karmen unit로 각각 86.7%와 131.4%의 유의한 증가가 인정되어 肝損傷 병태모델이 작성되었음을 알 수 있었다. Sample Ⅰ은 ALT 및 AST 효소활성도에서 對照群에 비하여 395.0±12.9 Karmen unit와 357.6±9.5 Karmen unit로 각각 111.4%($p<0.001$)와 115.4%($p<0.001$)의 치료효과를 보였고, Sample Ⅱ에서는 361.9±18.3 Karmen unit와 237.3±26.4 Karmen

unit로 각각 120.1%($p<0.001$)와 135.9%($p<0.001$)의 유의한 치료효과를 보였으며 거의 정상치로 회복됨이 인정되어 치료율 비교시 검액의 농도의 존적임을 알 수 있었다. 또한 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 341.3±24.5 Karmen unit와 276.0±19.3 Karmen unit로 各各 125.5%($p<0.001$)와 129.3%($p<0.001$)의 유의한 치료효과가 인정되었다.

한편, 四鹽化炭素 處置로 인한 肝損傷 병태모델 흰쥐에서 血淸 중 ALP 및 LDH 효소활성도 역시 非處置 正常群에 比하여 각각 161.8%와 46.9%의 유의한 효소활성도의 상승을 나타내었다. 血中 ALP 효소활성도에 대하여 Sample Ⅰ은 다소 억제시키는 경향만을 보였고 Sample Ⅱ는 對照群에 比하여 59.4%($p<0.01$)의 유의한 치료효과를 나타내었고 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群도 44.8%($p<0.05$)의 치료효과를 보였다. LDH 효소활성도에 대해서는 Sample Ⅰ, Sample Ⅱ 및 silymarin 모두에서 별다른 유의성이 인정되지 않았다.

四鹽化炭素를 생체내에 投與하면 대사과정에서 free radical을 생성하여 肝毒性을 유발시켜 肝損傷 병태모델이 작성되므로 蔘芪茵蔯湯의 지질과산화 형성억제활성을 평가하고자 하였다. 즉, 四鹽化炭素 處置로 유발된 肝損傷 흰쥐의 肝을 四鹽化炭素 處置후 혈액을 채취한 후 즉시 적출 하여 均質化하며, 한편으로 肝을 ultracentrifuge를 이용하여 mitochondria 분획, microsome 및 cytosol 분획을 얻어 각각에 대하여 thiobarbituric acid(TBA)를 이용하는 방법을 사용하여 지질과산화 형성억제효과 및 GST 효소활성도를 측정하여 비교평가하였다. 우선 肝 均質化物 중의 지질과산화 형성억제효과는 四鹽化炭素를 處置한 對照群은 非處置 正常群에 比하여 82.8%의 지질과산화 형성을 촉진시킴을 보여 주었으나 Sample Ⅰ, Sample Ⅱ 및 silymarin 모두에서 별다른 유의성이 인정되지 않았다. 그리고, mitochondria 및 cytosol 분획물에서 Sample Ⅰ은 별다른 변화를 나타내지 않았고, 반면에 Sample Ⅱ는 對照群에 比하여 각각 11.1%($p<0.05$)와 43.7%($p<0.05$)의 유의한 지질과산화 형성억제효과가 인정되었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 各各 17.1%($p<0.05$)와 51.7%($p<0.05$)의 유의성이 인정되었다.

또한 四鹽化炭素에 의한 肝損傷과 밀접한 관련이 있는 肝의 glutathione S-transferase(GST) 효소활성에 대한 영향을 검토하였다. 肝에서의 glutathione은 단백질이나 DNA합성, amino acid의 이동 반응 및 thiol基의 저장 등과 같이 생물학적인 중요한 여러 가지 반응에 직접 관여한다. 여러 가지 해독반응에서 체내에서 일차적으로 산화된 대사물을 포함하는 과정에서 내인성 반응체인 glutathione을 이용하여 체내의 독성물질을 전이 분해시키는 역할을 GST가 하는 것으로 알려져 있다.[31,32] 따라서, 공격성 중간체의 해독화 작용에 관여하는 肝 均質化物 GST 효소활성에 대하여 四鹽化炭素 處置 對照群은 非處置 正常群에 比하여 약 48.4%의 유의한 감소를 보였으며, Sample Ⅰ 및 Sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 各各 43.9%($p<0.01$)와 78.9%($p<0.001$)의 유의한 감소억제효과가 인정되었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群도 27.5%($p<0.05$)의 유의성이 인정되었다. 肝을 ultracentrifuge로 분획하여 얻은 mitochondria 분획에서의 GST 효소활성도를 검토한 바 四鹽化炭素 處置 對照群은 非處置 正常群에 比하여 57.9%의 유의한 감소를 나타내었고 Sample Ⅰ은 유의성을 보이지 않았으며, Sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 16.1%($p<0.05$)의 유의한 GST 효소활성도 감소억제효과를 관찰할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群에서도 27.4%($p<0.05$)의 유의성이 인정되었다. 그리고, mitochondria를 ultracentrifuge하여 얻은 microsome 분획과 cytosol 분획에서의 GST 효소활성도를 측정한 바 四鹽化炭素 處置 對照群은 非處置 正常群에 比하여 73.3%와 40.1%의 유의한 감소를 나타내었고, Sample Ⅰ은 두 분획 모두에서 별다른 유의성을 보이지 않았고, Sample Ⅱ는 microsome 분획에서만 24%($p<0.01$)의 유의한 GST 효소활성도 감소억제효과가 인정되었고, cytosol 분획에서는 억제시키는 경향만을 보여 주었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群도 microsome 분획에서만 33.3%($p<0.01$)의 유의성이 인정되었다.

四鹽化炭素와 다른 작용기전을 갖고 있는 d-galactosamine은 기능과 형태에서 있어서 바이러스성 肝炎과 유사한 肝毒性을 일으키는 것으로 보고되어 있다.[33] 그리고, galactosamine은 RNA와 단백질의 합성을 억제시키는 물질로 肝에서 galactose와 같은 경로를 거쳐 UDP-galactosamine으로 대사되는데 이것은 glycoprotein을 형성할 수 없으므로 uridine만 소모하게 되어 결국 肝의 UTP, UDP-sugar들을 고갈시켜 肝損傷을 유발시키는 것으로 알려져 있다.[34-38] 또한 세포막 성분 중 탄수화물의 조성과 세포내 Ca^{2+} 농도를 변화시켜 肝組織의 손상을 유발된다고 알려져 있다.[39] 특히, d-galactosamine은 간세포

괴사 및 실질세포와 문맥 등의 염증을 유발하고 급성 중독시 glucose 항상성을 유지시키기 위하여 대사장애가 일어나 肝 壞死가 일어나게 되며 만성 중독시 肝硬變과 細胞性 腫瘍이 일어나는 것으로 보고되어 있다.[40] 흰쥐에 d-galactosamine을 腹腔內에 주사하여 유발된 肝損傷에 대한 억제효과를 흰쥐의 血淸중의 transaminase(ALT&AST), lactic dehydrogenase(LDH)등의 효소활성도 등을 지표로 하여 평가하였다. d-Galactosamine만을 投與한 對照群은 d-galactosamine을 處置하지 않은 正常群에 比하여 血淸 중 ALT, AST, LDH의 효소활성도에서 각각 약 223%, 165.6% 및 22.2%의 유의한 증가가 인정되어 肝損傷 병태모델이 작성됨이 인정되었다.

肝損傷에 기인하여 血淸으로 이행되는 transaminase 효소활성에 미치는 검액의 효과를 평가한 바 ALT 및 AST 효소활성도는 Sample Ⅰ에서 각각 512.6±82.1 Karmen unit와 1043.7±118.6 Karmen unit로 ALT 효소활성도만 61.2%($p<0.001$)의 유의성을 보인 반면, Sample Ⅱ에서는 각각 83.2%($p<0.001$)와 63.1%($p<0.05$)의 유의한 transaminase 효소활성 상승억제효과가 인정되어 그 치료효과는 검액의 농도의존적임을 알 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群도 각각 30.1%($p<0.01$)와 64.4%($p<0.01$)의 유의성을 나타내었다. 그리고, LDH 효소활성도는 Sample Ⅰ에서는 68.5%($p<0.001$)의 유의성이 인정되었고 Sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 거의 정상치로 회복되는 92.1%($p<0.001$)의 유의한 효소활성의 상승억제효과가 인정되었고 陽性比較藥物 silymarin 200mg/kg 投與群도 유의한 개선효과를 나타내었다.

이상의 실험결과를 종합하면 蔘芪茵蔯湯 물추출물은 四鹽化炭素 處置로 유발된 肝損傷 흰쥐에 대하여 血淸중 肝損傷 지표인 transaminase, lactic dehydrogenase및 alkaline phosphatase 효소활성도에 대하여 검액의 농도의존적인 억제효과가 인정되었다. 그리고, 肝 均質化物 및 肝의 mitochondria 분획, microsome 및 cytosol 분획에서의 지질과산화 형성억제활성이 인정되었고, glutathione S-transferase 효소활성에 대해서도 억제시키는 경향을 보여 주어 四鹽化炭素 肝損傷에 대한 蔘芪茵蔯湯의 물추출물의 보호효과가 관찰되었다. 또한 다른 肝損傷 병태모델 작성약물인 d-galactosamine處置 유발 흰쥐 肝損傷에 대한 蔘芪茵蔯湯 물추출물 處置에 의하여 血淸 지표인 ALT, AST 및 LDH 효소활성도는 對照群에 比하여 유의한 개선효과가 인정되었다. 따라서, 蔘芪茵蔯湯은 肝損傷에 대한 보호효과가 있는 것으로 사료되며 또한 이 藥物의 肝損傷 작용기전에 대해서는 앞으로 계속 검토하고자 한다.

V. 結 論

蔘芪茵蔯湯의 효능을 실험적으로 규명하기 위하여 실험동물에 蔘芪茵蔯湯 煎湯 농축액을 經口投與하여 효소활성도 및 肝 中 지질과산화도 그리고 肝 Homogenate, mitochondria, cytosol, microsome 분획중 효소활성도에 있어 간보호효과를 관찰하였다. 효소활성도에 있어 transaminase(ALT & AST), LDH. ALP를 간균질화물분획에 있어 지질과산화도 및 GST를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 四鹽化炭素로 유발된 肝損傷에 대한 효과

1) 血淸中 ALT와 AST 활성에 있어 모두 對照群에 比하여 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서 각각 $p<0.001$의 유의성 있는 활성억제효과가 인정되었다.

2) 血淸中 ALP 活性에 있어 對照群에 比하여 sample Ⅱ는 $p<0.01$의 유의성 있는 ALP 활성억제효과가 인정되었다.

3) 血淸中 LDH 활성에 있어 sample Ⅱ는 對照群에 比해 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았고, sample Ⅰ은 별다른 변화를 관찰할 수 없었다.

4) 肝均質化物에 있어서 지질과산화는 對照群에 比하여 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서 별다른 차이를 발견할 수 없었다.

5) 肝 mitochondria 및 cytosol 분획에서의 지질과산화는 sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 각각 $p<0.05$, $p<0.05$의 유의한 지질과산화 억제효과가 인정되었다.

6) 肝均質化物에 있어서 GST 효소활성도는 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서 對照群에 比하여 각각 $p<0.01$, $p<0.001$의 유의한 감소억제효과를 나타내었다.

7) 肝 mitochondria 및 microsome 분획에서의 GST 효소활성도는 sample Ⅱ에서는 對照群에 比하여 각각 $p<0.05$, $p<0.01$ 의 유의한 감소억제효과를 나타내었다.

8) 肝 cytosol 분획에서의 GST 효소활성도는 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서 對照群에 比하여 다소 감소를 억제시키는 경향을 나타내었다.

2. d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대한 효과

1) 血淸中 ALT 활성에 있어 對照群에 比하여 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서

각각 $p<0.001$의 유의성있는 ALT 활성 억제효과를 나타내었으며, 血淸中 AST 활성에 있어 對照群에 比하여 sample Ⅱ는 $p<0.05$의 유의성있는 AST 활성 억제효과가 인정되었다.

2) 血淸中 LDH 활성에 있어 sample Ⅰ, sample Ⅱ에서 각각 $p<0.001$의 유의성있는 억제효과를 나타내었다.

이상의 실험결과를 종합하여 보면 蔘芪茵蔯湯은 CCl_4 및 d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대해서 肝保護效果가 인정되었으며 앞으로 계속하여 약물상호간의 작용 및 병리기전에 대하여 실험적 연구가 필요하리라 사료된다.

參考文獻

1. 全國韓醫科大學 肝系內科學敎授 共著. 肝系內科學. 서울: 東洋醫學硏究院; 1989, 24-9, 156, 164-84, 230-1.
2. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울: 成輔社; 1985, 139-140.
3. 巢元方等. 諸病源候論. 北京: 人民衛生出版社; 1982, 70-4, 87, 105-9.
4. 織田敏次. 肝臟病의 診斷學. 광주: 瑞光醫學書林; 1995, 115-7, 375-6, 439-40, 443-7.
5. 崔恩珠. CCl_4및 d-galactosamine으로 誘發된 흰쥐의 肝損傷에 대한 舟車丸의 肝保護效果. 尙志大學校 大學院 2001.
6. 周楨禳. 肝膽病效方230首 北京: 科學技術文獻出版社; 1995, 157,158.
7. Y. Niiho, T. Yamazaki, Y. Nakajima, H. Itoh, T. Takeshita, J-E. Kinjo and T. Nohara. Pharmacological Studies on Puerariae Flos. II. The effects of Puerariae Flos on Alcohol-Induced Unusual Metabolism and Experimental Liver Injury in Mice. YAKUKAGU ZASSHI 1990; 110: 604.
8. Reitman, S. and Frankel, S. , A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic acid and glutamic pyruvic transaminase, Am. J. Clin. Phathol. 1957; 28: 56.
9. Kind, P.R.N and King, E.J. . Estimation plasma phosphatase by determination of hydrolysed phenol with aminoantipyrine, J. Clin. Path. 1954; 7: 322.
10. Wroblewski, F. and J.S. LaDue. Lactic dehydrogenase activity in blood, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1955; 90: 210.
11. Yokozawa, T., Dong, E., Wu Liu, Z., Oura, H. and Nishioka, I.. Antioxidation activity of Wen-Pi-Tang in vitro. Natural Medicines 1996; 50(3): 243.
12. Habig, W. H., Pabst, M. J. and Jakoby, W. B. . Glutathion S-tansferase : J. Biol. Chem.; 1974, 249, 7130.
13. 全國 韓醫科大學 本草學 敎授 共編著. 本草學. 서울: 永林社; 1991, 150, 243, 306, 329, 352, 370, 420, 427, 446, 535-7, 553-4, 579, 597.
14. 金昌玟, 辛民敎, 安德均, 李京淳 外. 完譯中藥大辭典. 서울: 圖書出版 鼎談; 1997, 855-862, 3503.
15. 楊思澍, 張樹生, 傅景華 主編. 中醫臨床大全 上冊. 北京: 北京科學技術出版社; 1991, 558
16. 김병운, 김정제. 간염유관항원양성 만성간질환 2예. 경희한의대논문집 1978;1: 189-192.
17. 康秉秀, 金永坂. 臨床配合本草學. 서울: 圖書出版 永林社; 1996, 323, 373-4.
18. 小澤 光 監修. 新藥開發のための藥效スクリーニング法. 東京: 淸至書院; 1984, 69-82.
19. 阿部博子, 戶田靜男, 大井久代, 久保道德, 有地 滋. D-galactosamineに代するサイコサポニンの作用. 和漢藥シンポジウム 1978; 11, 7-10.
20. 박은전, 김재백, 손동환, 고건일. 실험적 간경화 병태모델 비교. 약학회지 1997; 41(5): 622.
21. 이준우, 정훈, 한만덕, 백성진, 김용석, 강상모. G009가 CCl_4로 유발된 간손상 및 지질 과산화에 미치는 영향. 생약학회지 1996; 27(3): 159.
22. A. Kamokawa, S. Ohta, A. Tatsugi, M. Kumasaka and M. Shinoda. Experimental Production of Various Types of Cholestasis and the Effects of Cystemine. YAKUGAKU ZASSHI 1986; 106(8): 709.
23. Y. Kiso, C. Konno, H. Hikino, I. Hashimoto and H. Wakasa. Protective action of Desoxypodophyllotoxin on d-galactosamine-induced liver lesion in rats. Chem. Pharm. Bull.1982; 30(9): 3817.
24. Kumazawa, N., Ohta, S., Tu, S-H., Kamogawa, A. and Shinoda, M. . Protective Effects of Various Methanol Extracts of Crude Drugs on Experimental Hepatic Injury Induced by α-Naphthylisothiocyanate in Rats. YAKUGAKU ZASSHI 1991; 111: 199.
25. Ishizuka, O., Kumazawa, N., Ohta, S., Kamogawa, A. and Shinoda, M. Protective Effects of Various Methanol Extracts of Crude Drugs on Experimental Subacute and Chronic Hepatic Injury. YAKUGAKU ZASSHI 1992; 112: 174.
26. Ohta, S., Sato, N., Tu, S-H., Kamokawa, A. and Shinoda, M. . Protective Effects of Taiwan Crude Drugs on Experimental Liver Injuries. YAKUGAKU ZASSHI 1993; 113: 870.
27. McCay, P. B., Lai, E. K., Poyer, J. L., DuBose, C. M. and Jansen, E. G. . Oxygen and Carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. J. Biol. Chem. 1984; 259: 2135
28. Rechnagel, R. O. and Glende, E. A. Jr. . Carbon tetrachloride hepatotoxicity, an example of lethal cleavage. CRC Crit. Rev. Toxicol. 1973; 2: 263-297.
29. Gravela, E., Albano, E., Dianzani, M., Poli, G. and Slater, T. . Effects of carbon tetrachloride on isolated rat hepatocytes. Biochem. J. 1979; 178: 509.
30. Hayes, Principles and Method of Toxicology, Gabriel L. Plaa and William R. Hewitt., Raben Press. 1982; 407-445
31. Ploemen, J. H., van Ommen, B. and van Bladeren, P. J. . Inhibition of rat and human glutathione S-transferase isoenzymes by ethacrynic acid and its glutathione conjugate. Biochem. Pharmacol. 1990; 40: 1631-1635.
32. Vos, R. M. and van Bladeren, P. J. . Glutathione S-tranferase in relation to their role in the biotransformation of xenobiotics. Chem. Biol. Interact. 1990; 75: 241-265.
33. Keppler, D. and Decker, K. . Studies on the mechanism of galactosamine hepatitis ; Accumulation of galactosamine-1-phosphate and tis inhibition of UDP-

glucose pyrophosphorylase. Eur. J. Biochem. 1969; 10: 219-225.
34. Medline, A., Schaffner, F. and Popper, H. . Ultrastructural features of galactosamine-induced hepatis. Exp. Mol. Pharmacol. 1970; 12: 201.
35. Decker, K., Keppler, D. and Pausch, J. . The regulation pyridine nucleotide level and its role in expermental hepatitis. Adv. Enzyme Regul. 1973; 11: 205-230.
36. Decker, K., Keppler, D. . Galactosamine-induced liver injury. In Progress in liver disease. (Popper, H. and Schaffer, E. ed.), vol. 14. New York: Grune & Stratton; 1973, 183.
37. 최영주, 이미경, 손여원, 이흡숙, 김영중, 민홍기. 우황과 사향의 간세포 보호효과. 응용약물학회지 1996; 4, 271.
38. Wang, J. F. and Wendel, A. . Studies on the hepatotoxicity of galactosamine/endotoxin or galactosamine/TNF in the perfused mouse liver. Biochem. Pharmacol. 1990; 39: 267-270.
39. El-Mofty, S. K., Scrutton, M. C., Serroni, A., Nicolini, C. and Farber, J. L., Early. Reversible plasma membrane injury in galactosamine-induced liver cell death. Am. J. Pathol. 1975; 79: 579-595.
40. Farber, J. L., Gill, G. and Konishi, Y.. Prevention of galactosamine-induced liver cell necrosis by uridine. Am. J. Pathol. 1973; 72: 53-62.