

원저

紅花子藥鍼液이 水銀에 의한 肝細胞 損傷에 미치는 影響

박재영* · 윤현민 · 장경전 · 송춘호 · 안창범

*동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실
동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실 및 한의학연구소

Abstract

The Effect of Carthami Semen Aquacupuncture on HgCl₂-Induced Liver Cell Injury

Park Jae-young*, Youn Hyoun-min, Jang Kyung-jeon,
Song Choon-ho and Ahn Chang-beohm

*Department of Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Dong-Eui University
Department of Acupuncture & Moxibustion, College
of Oriental Medicine and Research Institute of Oriental Medicine,
Dong-Eui University

Objective : This study was undertaken to examine whether Carthami Semen aquacupuncture (CSA) exerts protective effect against Hg-induced cell injury in rabbit liver.

Methods : The cell injury was evaluated by ALT activity and lipid peroxidation was estimated by measuring malondialdehyde (MDA).

Results : Hg caused an increase of ALT activity and lipid peroxidation in a dose-dependent manner over concentrations of 0.1-1 mM, which were prevented by addition of 0.005% CSA. The protective effect of CSA was dose-dependent in concentration range of 0.001 to 0.01%. The increase of ALT activity and lipid peroxidation induced by 0.5 mM Hg were almost completely decreased by addition of 0.01% CSA. When the

- 접수 : 2002년 7월 13일. · 수정 : 2002년 8월 1일 · 채택 : 2002년 9월 14일
· 교신저자 : 송춘호, 부산시 부산진구 양정2동 산45 동의대학교 한의과대학 침구경혈학교실
Tel. 051-850-8643, Fax : 051-853-4036, E-mail : chsong@dongeui.ac.kr

liver tissues were exposed to 0.5 mM Hg, GSH content was decreased, which was significantly restored by 0.01% CSA. 0.5 mM Hg caused decrease in the amount of total and nonprotein sulfhydryl groups, and 0.01% CSA prevented Hg-induced reduction of nonprotein sulfhydryl group but not protein sulfhydryl group.

Conclusions : These results suggest that CSA exerts protective effect against Hg-induced cell injury by antioxidant action resulting from enhancement of nonprotein sulfhydryl group content including GSH in liver.

Key words : Carthami Semen aquacupuncture, Hg-induced liver cell injury, ALT, MDA, GSH

I. 緒 論

紅花子(Carthami Semen)는 잇꽃의 종자로서 性味는 溫甘하고 心脾經에 歸經하며 活血解毒시키는 效能이 있다^{1,2)}.

肝은 疏泄과 藏血을 主하고 糖質, 蛋白質, 脂質 및 콜레스테롤, 維生素, 鐵代謝에 關여하며 造血과 破血, 血液凝固, 膽汁代謝, 解毒, 核酸代謝 및 호르몬代謝 등의 多樣的 役割을 遂行하고 있다. 이러한 肝은 飲酒, 高脂肪食, 感染, 中毒 등의 內外要因으로 인해 그 機能을 喪失하면 여러 가지 肝臟疾患이 發生하게 된다^{3,4)}.

水銀이 體내에 들어오면 主로 腎臟과 肝組織에 축적되어 肝細胞損傷이 일어나게 된다^{5,6)}. 水銀이 細胞의 機能을 손상하는 作用은 미토콘드리아 機能을 降低하고⁷⁾, 細胞代謝 過程을 억제하며⁸⁾, cytoskeleton의 損傷⁹⁾ 및 細胞膜 磷脂質의 分해로 인한 脂肪酸의 遊離¹⁰⁾ 등에 기인하는 것으로 밝혀졌다. 그 作用 機轉은 細胞의 sulfhydryl(SH) group과 반응하여 free SH group들을 감소시키는 效果를 가지고 있기 때문으로 인정되고 있다^{11,12)}. 水銀과 같은 重金屬들이 有害酸素를 발생시켜 細胞毒性을 나타낸다

는 實驗 結果가 발표됨으로써¹³⁾, 抗酸化作用을 가진 藥物이 水銀의 毒性作用을 防止할 가능성이 대두되고 있다.

근래 肝損傷에 關한 研究로는 孫 등¹⁴⁾의 鍼刺戟에 關한 報告와 韓 등¹⁵⁾의 藥鍼과 經口投與의 比較 研究 등의 報告가 있었다. 紅花子藥鍼에 關한 研究로는 趙 등¹⁶⁾의 急性腎不全에 미치는 影響에 關한 報告와 黃 등¹⁷⁾의 骨多孔症에 미치는 影響에 對한 報告 등이 있었다.

이에 紅花子藥鍼液이 水銀에 의한 肝細胞 損傷에 어떤 效果를 나타내는지 확인하기 위하여 肝組織에 水銀을 처리하여 alanineaminotransferase(ALT) 活性, 細胞膜 脂質의 過酸化 程度, SH group 量의 變化를 조사하고 이에 對한 紅花子藥鍼液의 影響을 관찰하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

實驗材料로는 體重 1.5~2kg되는 New Zealand 產 家兔를 동물사육장에서 구입하여 암수 구별없이

사용하였다. 紅花子は 시중에서 구입하여 동의대학교 한의과대학 본초학교실의 검증을 받아 사용하였다.

2. 藥鍼液의 製造

試料 387g에 methanol 2,000ml를 加하여 水浴上에서 8시간씩 3회 熱還流하여 抽出하고 前 methanol 抽出液을 減壓 濃縮하여 10.4g 정도의 抽出液을 얻어 실험에 使用하였다.

3. 肝組織 切片의 製作

토끼를 희생시킨 후 肝臟을 들어내어 100mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 40mM Tris-HCl (pH 7.5)로 된 冷한 용액을 肝動脈內에 주입하여 血液을 제거한 다음 Stadie-Riggs microtome으로 약 0.3~0.5mm 두께의 肝組織 切片을 만들어 사용하였다.

4. 肝組織에 水銀의 處理

肝組織 切片 약 50mg을 4ml의 incubation용액이 들어 있는 비이커 속에 넣고 Dubnoff metabolic shaker 내에서 100% 산소를 계속 供給하면서 37℃에서 incubation 하였다. 기본 incubation용액의 造成은 130mM NaCl, 10mM KCl, 1.5mM CaCl₂, 5mM glucose, 10mM Tris-HCl(pH 7.5)로 되어 있으며, 水銀을 처리할 때는 水銀이 들어 있는 용액 내에서 60분 동안 incubation하였다. Incubation후에 組織을 들어내어 細胞의 損傷정도를 조사하기 위하여 ALT 活性을 測定하였으며, 또한 細胞損傷이 脂質의 過酸化와 연관이 있는지를 조사하였다. 본 실험에서 紅花子藥鍼液은 실험에 사용된 용액 내에 필요한 濃度로 녹여 사용하였다.

5. ALT 活性의 測定

水銀으로 처리된 肝組織 切片을 들어내고 in-

cubation溶液을 50 μ l 취하여 incubation용액내의 ALT 活性은 ALT assay kit(Sigma Chemical)를 사용하여 測定하였다.

6. Malondialdehyde 含量 測定

細胞膜 脂質의 過酸化 정도는 그 산물인 malondialdehyde(MDA) 量을 Uchiyama와 Mihara 방법¹⁸⁾으로 測定하여 평가하였다. 간단히 설명하면, 水銀으로 처리된 肝組織切片을 차가운 1.15% KCl 용액(5% wt/vol)속에서 破碎하였다. 이 組織 破碎 均質液 0.5ml에 1% 인산용액 3ml와 0.6% thiobarbituric acid 용액 1ml를 첨가하여 끓는 물에서 45분간 가열하였다. n-butanol 4ml를 첨가하여 완전히 섞은 다음 2,000g에서 20분간 원심 분리한 후, 상층액의 흡광도를 536과 520nm에서 測定하였다. 단백질 濃度는 Bradford의 방법¹⁹⁾으로 測定하였다.

7. SH group 量의 測定

肝組織을 증류수 4ml가 든 시험관내에 넣어 homogenizer(Con Torgue NO.7265)로 균등질을 만들었다. Total SH 量의 測定은 균등질액 25 μ l를 0.15M Tris 완충액 (pH 8.0)에 녹인 0.15mM DTNB 1ml와 잘 혼합하여 spectrophotometer(Hewlett Packard 8453)를 이용하여 412nm에서 흡광도를 測定하였고, 비단백성 SH group 量의 測定은 균등질액 100 μ l에 10% TCA 100 μ l를 첨가하여 단백질을 침전시킨 다음, 상등액 25 μ l를 취해 위에서 설명한 대로 測定하였다. Total SH group 量에서 비단백성 SH group 量을 除하여 단백질 SH group 量을 산정하였다.

8. 統計 處理

成績은 平均值 \pm 標準誤差로 나타내었으며, 平均 值間의 有意性은 Student's t-test를 이용하여 檢

定하였고 p 값이 0.05 미만일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 成績

1. 肝組織에서 水銀의 細胞損傷 效果와 紅花子藥鍼液의 影響

<그림 1>은 肝組織에서 0.005% 紅花子藥鍼液이 들어 있는 경우와 들어 있지 않은 경우에 여러 濃度의 水銀을 60분 동안 處理하였을 때 組織損傷 정도를 확인하기 위하여 ALT 活性의 變化를 조사한 결과이다. 그림에서 보는 바와 같이 水銀의 濃度가

증가함에 따라 ALT 活性이 비례하여 증가하였으며, 水銀의 濃度가 0.1mM일 때 ALT 活性은 정상 의 0.97 ± 0.07 에서 2.03 ± 0.13 Units/g wet wt.으로 유의한 증가를 보였으며, 1mM일 때는 11.32 ± 1.45 Units/g wet wt.으로 증가하였다.

그러나 水銀을 처리할 때 紅花子藥鍼液 0.005%를 동시에 添加한 결과 ALT 活性은 유의하게 감소하였다.

2. 脂質의 過酸化에 대한 水銀의 效果와 紅花子藥鍼液의 影響

肝組織에서 ALT 活性에 대한 水銀 및 紅花子藥鍼液의 效果가 脂質의 過酸化의 증가에 기인하는지 를 조사하기 위하여 0.005% 紅花子藥鍼液이 들어 있는 경우와 들어 있지 않은 경우 水銀의 濃度에

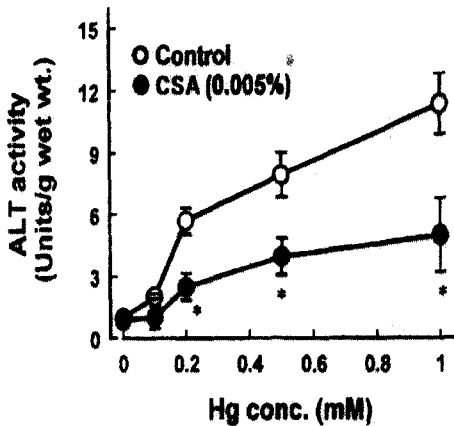


Fig. 1. Effect of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) on dose-dependency of Hg-induced ALT activity in the liver tissues. The tissues were treated with various concentrations of Hg for 60min at 37°C in the presence or absence of 0.005% CSA, and ALT activity was measured. Data are mean \pm SE of five experiments. * $p < 0.05$ compared with the respective control.

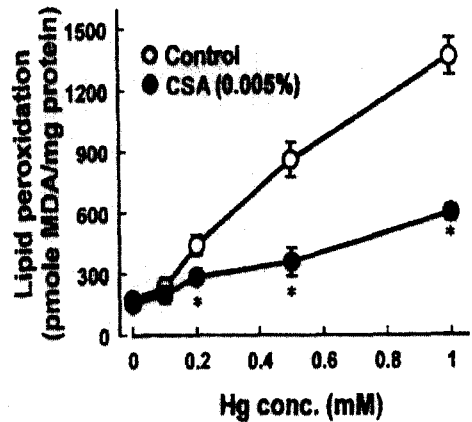


Fig. 2. Effect of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) on dose-dependency of Hg-induced lipid peroxidation in the liver tissues. The tissues were treated with various concentrations of Hg for 60min at 37°C in the presence or absence of 0.005% CSA, and lipid peroxidation was measured. Data are mean \pm SE of five experiments. * $p < 0.05$ compared with the respective control.

다른 脂質의 過酸化를 測定하여 그 결과를 <그림 2>에 나타내었다. 이 그림에서 보는 바와 같이 ALT 活性에 대한 效果와 類似하게 水銀은 濃度증가에 따라 脂質의 過酸化를 濃度에 비례하여 증가시켰는데, 0.1mM의 濃度에서 脂質의 過酸化는 175.39 ± 27.38 에서 233.48 ± 46.19 pmole MDA/mg protein으로 증가하였고, 水銀의 濃度가 1mM로 증가하였을 때 脂質의 過酸化는 1356.38 ± 49.01 pmole MDA/mg protein으로 증가하였다. 그러나 0.005% 紅花子藥鍼液을 水銀과 동시에 첨가한 결과 脂質의 過酸化 증가는 유의하게 억제되었다. 이러한 결과는 水銀에 의한 肝組織의 損傷이 脂質의 過酸化에 의해 유발되고 있으며, 紅花子藥鍼液의 防止效果는 脂質의 過酸化를 억제하여 나타날 가능성을 보이고 있다.

3. 細胞損傷에 대한 紅花子藥鍼液의 濃度 變化의 效果

紅花子藥鍼液이 水銀에 의한 肝組織의 損傷을 防止할 수 있는 效果가 濃度 變化에 따라 어떤 영향을 받는지를 조사하기 위하여 紅花子藥鍼液의 濃度を 0.0005에서 0.01% 까지 변화시켜 관찰한 결과, <그림 3>에서 보는 바와 같이 0.5mM 水銀에 의해 ALT 活性이 정상의 0.76 ± 0.05 에서 8.58 ± 1.17 Units/g wet wt.로 약 11배 증가하였고, 여기에 紅花子藥鍼液을 0.001% 첨가하였을 때 ALT 活性은 4.27 ± 0.08 Units/g wet wt.로 감소하였으며, 紅花子藥鍼液이 0.01% 일 때는 0.66 ± 0.03 Units/g wet wt.로 水銀이 들어 있지 않은 정상 조직에서의 값과 별 차이가 없었다. 이와 같이 水銀에 의한 細

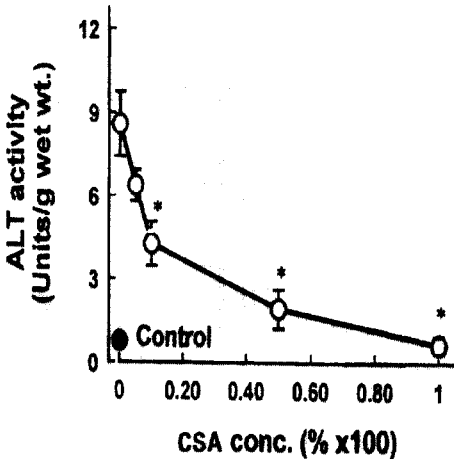


Fig. 3. Dose-dependency of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) protective effect against Hg-induced ALT activity in rabbit liver. The tissues were treated with 0.5 mM Hg for 60 min at 37 °C in the presence or absence of 0.0005–0.01% CSA, and ALT activity was measured. Data are mean ± SE of five experiments. *p < 0.05 compared with Hg alone.

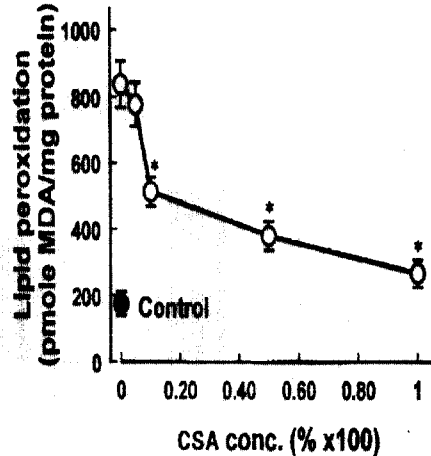


Fig. 4. Dose-dependency of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) protective effect against Hg-induced lipid peroxidation in rabbit liver. The tissues were treated with 0.5mM Hg for 60min at 37°C in the presence or absence of 0.0005–0.01% CSA, and lipid peroxidation was measured. Data are mean ± SE of five experiments. *p < 0.05 compared with Hg alone.

胞損傷을 防止하는 紅花子藥鍼液의 效果는 濃度에 비례하여 ALT 活性이 감소되었다.

4. 脂質의 過酸化에 대한 紅花子藥鍼液의 濃度 變化의 效果

위의 실험성적에서 水銀의 細胞損傷 機轉은 脂質의 過酸化와 聯關되어있음을 확인하였다. 따라서 紅花子藥鍼液 濃度 變化의 效果가 脂質의 過酸化에도 나타나는지를 조사하여 <그림 4>에 나타내었다. 이 그림에서 보는 바와 같이 0.5mM 水銀을 처리했을 때 脂質의 過酸化가 175.20 ± 35.41 에서 837.23 ± 39.68 pmole MDA/mg protein으로 증가하였고, 여기에 紅花子藥鍼液을 0.0005에서 0.01% 첨가했을 때 脂質의 過酸化는 紅花子藥鍼液의 濃度에 比例하여 防止되었는데, 그 防止 정도는 ALT 活性에 대한 效果와 유사하게 0.001%에서 유의하게 防止되

었고, 0.01%에서는 거의 정상조직의 수준까지 감소하였다. 이러한 결과는 紅花子藥鍼液이 강력한 抗氧化 效果를 가지고 있으며, 이러한 效果로 인해 肝組織에서 水銀에 의한 肝組織의 損傷을 防止하고 있음을 가리킨다.

5. SH group 量에 대한 水銀과 紅花子藥鍼液의 效果

水銀이 細胞損傷을 일으키는 機轉이 SH group과 반응하여 free SH group 量을 減少시키는데 있는 것으로 인정되고 있기 때문에⁹⁻¹², 紅花子藥鍼液이 水銀에 의한 SH group 量의 減少를 防止하는지 관찰하였다. <그림 5>는 단백질 SH group 量에 대한 水銀과 紅花子藥鍼液의 影響을 조사한 결과인데, 0.5mM 水銀을 처리했을 때 SH group 量이 3.87 ± 0.32 nmole/mg protein에서 0.70 ± 0.22

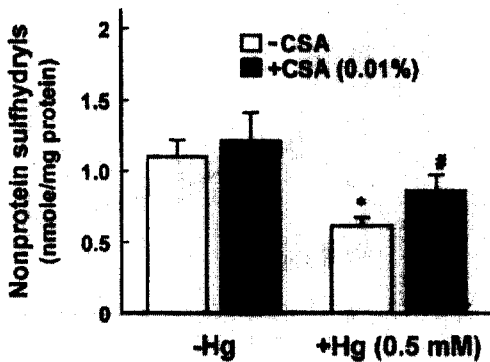


Fig. 5. Effect of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) on Hg-induced reduction of protein sulfhydryl group content in rabbit liver. The tissues were treated with 0.5 mM Hg for 60 min at 37 oC in the presence or absence of 0.01% CSA, and total sulfhydryl group content was measured in the incubation medium. Data are mean \pm SE of five experiments. *p<0.05 compared with -Hg; #p<0.05 compared with -Hg.

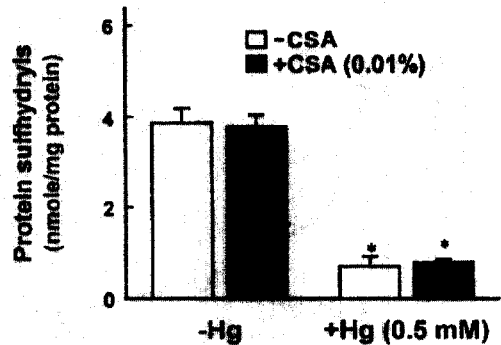


Fig. 6. Effect of Carthami Semen aquacupuncture (CSA) on Hg-induced reduction of nonprotein sulfhydryl group content in rabbit liver. The tissues were treated with 0.5mM Hg for 60min at 37oC in the presence or absence of 0.01% CSA, and nonprotein sulfhydryl content was measured in the incubation medium. Data are mean \pm SE of five experiments. *p<0.05 compared with -Hg; #p<0.05 compared with Hg alone.

mole/mg protein으로 유의한 감소현상을 보였으며, 0.01% 紅花子藥鍼液을 첨가하였을 때 水銀을 처리하지 않은 정상조직이나 水銀을 처리한 조직에서 단백질 SH group 量에는 유의한 변화를 나타내지 못하였다. 그러나 紅花子藥鍼液은 <그림 6>에서 보는 바와 같이 단백질 SH group 量에 대한 것과는 달리 水銀에 의해 감소된 비단백성 SH group 量을 유의하게 증가시켰다.

IV. 考 察

藥鍼療法은 여러 가지 新鍼療法 가운데 最近 들어 비교적 가장 活潑하게 臨床에서 應用되고 實驗이 行해지고 있는데, 이것은 鍼刺戟과 藥物의 注入을 並行, 結合시킨 療法으로 經絡學說의 原理에 依據하여 藥物을 選擇하여서 有關한 穴位, 壓痛點 혹은 體表의 觸診으로 얻어진 陽性 反應點에 注入하여 鍼刺戟으로서의 作用과 藥物의 效能이 上昇效果를 나타내어 生體의 機能을 調整하고 病理狀態를 改善시켜 疾病治療의 目的을 達成하고자 하는 新鍼療法이다.²⁰⁾

肝은 生理的으로 疏泄 및 藏血의 機能을 主管하는데 疏泄機能은 肝氣疏通, 調脹氣血運行, 脾胃의 消化機能補助 및 情志活動을 包含하며, 藏血機能은 血液의 貯藏과 血量을 調節하는 것으로 人體의 正常的 生理活動을 維持하게 한다³⁾. “肝者 將軍之官 謀慮出焉”²¹⁾, “肝者 主爲將 使之候外”²¹⁾라고 하여 肝은 外邪에 對抗하는 役割을 하는 것으로 인식된다.

紅花子は 活血解毒시키는 效能이 있어 婦人血氣 停滯腹痛, 氣血刺痛, 瘡疽不出 등에 활용되므로^{1), 2)}, 藥物中毒으로 인한 症狀에 解毒作用이 있으리라 생

각되어 이를 추출하여 藥鍼液으로 사용하였다.

水銀이 反應性酸素基를 발생시켜 脂質의 過酸化를 誘發함으로써 細胞毒성을 나타낸다는 실험결과들이 報告되자²²⁻²⁴⁾, 抗酸化劑를 이용하여 水銀에 의한 細胞損傷을 防止할 수 있는지에 대한 연구들이 行해되었다. Chang 등²⁵⁾은 햄스터를 대상으로 실험한 결과 비타민 E가 水銀에 의한 신경조직 손상을 防止한다고 하였으나, Sarafian과 Verity²⁶⁾는 α -tocopherol을 처리했을 때 水銀에 의해 증가된 脂質의 過酸化는 억제되나 細胞독성은 防止하지 못한다는 결과를 報告하였다. 이와 같이 抗酸化劑가 水銀에 의한 細胞毒성을 防止할 수 있는지는 명확하지 않다. 그러나 최근에 Nath 등¹³⁾은 水銀이 腎臟組織에서 직접 反應性酸素基를 발생시킨다는 결과를 관찰함으로써 水銀의 細胞毒성에 反應性酸素基의 關聯性이 확인되고 있다.

본 연구에서 肝組織을 水銀에 노출시킨 결과 肝細胞損傷의 지표인 ALT 活性이 증가하고, 유사한 정도로 水銀이 脂質의 過酸化를 유발함으로써 水銀에 의한 肝組織損傷이 脂質의 過酸化와 연관되어 있음을 보였다. 水銀을 처리하는 용액내 紅花子藥鍼液을 첨가한 결과 水銀에 의해 증가되었던 ALT 活性이 유의하게 減少하였으며, 그 효과는 紅花子藥鍼液의 濃도에 비례하여 나타남으로써 紅花子藥鍼液이 肝組織에서 肝毒性物質인 水銀에 의한 細胞損傷을 防止할 수 있음을 보였다.

水銀이 細胞損傷을 일으키는 機轉 중의 하나가 脂質의 過酸化임이 본 실험의 결과로서도 확인되었기 때문에 紅花子藥鍼液이 脂質의 過酸化를 억제하여 水銀에 의한 細胞損傷을 防止할 수도 있다. 그 가능성을 시험하기 위하여 肝組織에 水銀을 처리할 때 동시에 紅花子藥鍼液을 첨가한 결과 예상대로 水銀에 의한 脂質의 過酸化가 防止되었고, 그 효과 또한 濃도에 비례하여 나타났다. 따라서 이러한 실험결과는 紅花子藥鍼液이 水銀에 의한 細胞損傷을

방지하는 效果가 脂質의 過酸化를 방지하는 작용에 기인하고 있음을 보이고 있다.

紅花子藥液이 反應性酸素基에 의한 細胞 損傷을 방지하는 效果를 나타내는 것은 여러 가지 機轉에 기인할 수 있다. 이 藥物이 脂質의 過酸化를 직접 防止함으로써 나타낼 수도 있고, 藥物이 脂質의 過酸化를 직접 방지하지 않더라도 反應性酸素基를 직접 제거하는 작용을 가지고 있다면 2차적으로 脂質의 過酸化 및 그로 인한 細胞 損傷이 防止될 것이다. 또한 細胞 내에는 정상적으로 反應性酸素基를 제거하는 酵素나 物質을 가지고 있는데, 藥物이 이들 內在性 抗酸化酵素나 物質들의 活性이나 濃度を 증가시킨다면 나타날 수 있다.

SH group은 細胞에 있는 物質移動界 및 酵素活性의 중요한 group이기 때문에 그 量이 감소하게 되면 反應性酸素基가 발생할 수도 있고, 또한 細胞機能에 중요한 단백질들의 기능이 阻害되는 것으로 알려져 있다²⁷⁻³⁰⁾. 膽汁이 肝細胞내로 이동하는 과정에서 SH group이 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀짐으로써³¹⁾, SH group이 肝細胞의 기능에도 중요하게 作用한다는 것을 알 수 있다. 水銀은 여러 조직에서 SH group 量을 減少시킨다는 것이 알려져 있어⁹⁻¹²⁾, 만약 紅花子藥液이 水銀에 의한 SH group 量의 減少를 억제한다면 細胞 損傷을 방지할 수도 있을 것이다.

본 실험에서 水銀을 처리한 결과 단백질 및 비단백성 SH group 量은 현저하게 減少하였으며, 紅花子藥液이 단백질 SH group 量에는 影響이 없었으나 비단백성 SH group 量은 유의하게 회복시켰다.

이러한 결과들로 보아 紅花子藥液은 비단백성 SH group 量의 감소를 방지함으로써 水銀에 의한 肝細胞 損傷 및 脂質의 過酸化를 방지하는 것으로 생각되며, 反應性酸素基로 인한 여러가지 疾病의 發生 抑制에 活用될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나

紅花子藥液이 어떤 機轉으로 비단백성 SH group 量을 증가시키는지에 대해서는 계속적인 研究가 필요할 것으로 생각된다.

V. 結 論

紅花子藥液이 水銀에 의한 肝細胞 損傷에 미치는 影響을 實驗한 결과 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 0.005% 紅花子藥液은 水銀의 濃도에 比例하여 증가된 ALT 活性과 脂質의 過酸化를 유의하게 감소시켰다.

2. 紅花子藥液은 0.5mM 水銀에 의해 유발된 ALT 活性 증가를 濃度 의존적으로 억제하였으며, 0.01% 濃度에서 정상 수준까지 감소시켰다.

3. 紅花子藥液은 0.5mM 水銀에 의해 유발된 脂質의 過酸化 증가를 濃度 의존적으로 억제하였으며, 0.01% 濃度에서 거의 정상 수준까지 감소시켰다.

4. 0.5mM 水銀은 단백질 SH group과 비단백성 SH group의 量을 감소시켰으며, 0.01% 紅花子藥液은 단백질 SH group 量에는 影響이 없었으나 비단백성 SH group 量은 유의하게 증가시켰다.

이상의 결과로 볼 때, 紅花子藥液은 水銀에 의한 肝細胞 損傷을 유의하게 억제하였으며 反應性酸素基로 인한 여러가지 疾病의 發生 抑制에 活用될 수 있을 것으로 생각된다.

V. 參考文獻

1. 辛民教 外, 圖解鄉藥生藥大事典, 서울:永林社, 1990:1035.
2. 李時珍, 本草綱目, 北京:人民衛生出版社, 1982 :967-968.
3. 金定濟 外, 東醫肝系內科學, 서울:集文堂, 1986 :27-36.
4. 醫學教育研修院, 家庭醫學, 서울:서울大出版部, 1986:726.
5. Nielsen JB and Andersen O. Disposition and retention of mercuric chloride in mice after oral and parenteral administration. *J Toxicol Environ Health*. 1990; 30:167-180.
6. Blazka ME and Shaikh ZA. Cadmium and mercury accumulation in rat hepatocytes: interactions with other metal ions. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1992;113:118-125.
7. Weinberg JM, Harding PG and Humes HD. Mitochondrial bioenergetics during the initiation of mercuric chloride-induced renal injury. I. Direct effects of in vitro mercuric chloride on renal cortical mitochondrial function. *J Biol Chem*. 1982 ;257:60-67.
8. Southard J, Nitisewojo P and Green DE: Mercurial toxicity and the perturbation of the mitochondrial control system. *Fed Proc*. 1974;33:2147 -2153.
9. Elliget KA, Phelps PC and Trump BF. HgCl₂-induced alteration of actin filaments in cultured primary rat proximal tubule epithelial cells labelled with fluorescein phalloidin. *Cell Biol Toxicol*. 1991 ;7 :263-280.
10. Troyer DA, Kreisberg JI and Venkatachalam MA. Lipid alterations in LLC-PK 1 cells exposed to mercuric chloride. *Kid Int*. 1995;29:530-538.
11. Goyer RA. Toxic effects of metals. In: Casarell and Doull's toxicology: The basic science of poisoning. Amdur MO, Doull J and Klassen CD, eds., 4th ed. New York:Pergmon Press. 1991:629-681.
12. Bohets HH, van Thielen MN, van der Biest I, van Landeghem GF, D'Haese PC, Nouwen EJ, DeBroe ME and Dierickx PJ. Cytotoxicity of mercury compounds in LLC-PK1, MDCK and human proximal tubular cells. *Kid Int*. 1995;47: 395-403.
13. Nath KA, Croatt AJ, Likely S, Behrens TW and Warden D. Renal oxidant response induced by mercury. *Kid Int*. 1996 ;50:1031-1043.
14. 孫寬永, 姜成吉, 朴英培. 鍼刺戟이 원귀 急性 損傷肝 및 肝癌 發生過程에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1995;12(1):125-135.
15. 韓相源, 朴淳達. 茵陳蒿湯의 藥鍼과 經口投與가 損傷肝에 미치는 組織學的 比較觀察. 大韓鍼灸學會誌. 1997;14(2):267-276.
16. 趙敏秀, 張慶田, 宋春浩, 安昌範. 紅花子藥鍼이 水銀中毒에 의한 家兔의 急性腎不全에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1998 ; 15(1) : 503-513.
17. 黃友良, 李昌炫, 陸泰翰. 紅花子藥鍼液이 實

- 驗的 骨多孔症에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1999;16(1):485-495.
18. Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Anal Biochem.* 1978; 86:271-278.
 19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem.* 1976;72:248-254.
 20. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學. 서울: 集文堂. 1988:1457.
 21. 洪元植. 精校黃帝內經素問. 서울: 東洋醫學研究院出版部. 1985: 11, 16, 17, 25, 34, 36, 69, 89, 303.
 22. Stacey NH and Kappus H. Cellular toxicity and lipid peroxidation in response to mercury. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1982;63:29-35.
 23. LeBel CP, Ali SF, McKee SFA and Bondy SC. Organometal-induced increases in oxygen reactive species: The potential of 2', 7'-dichloro fluorescein diacetate as an index of neurotoxic damage. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1990;104:17-24.
 24. Yonaha M, Ohbaushi Y, Ichinose T and Sagai M: Lipid peroxidation stimulated by mercuric chloride and its relation to the toxicity. *Chem Pharm Bull.* 1982;30: 1437-1442.
 25. Chang LW, Gilbert M and Sprecher J. Modification of methylmercury neurotoxicity by vitamin E. *Environ Res.* 1978; 17:356-366.
 26. Sarafian T and Verity MA. Oxidative mechanisms underlying methyl mercury neurotoxicity. *Int J Neurosci.* 1991;9:147-153.
 27. Knauf PA and Rothstein A. Chemical modification of membrane. I. Effects of sulfhydryl and amino reactive reagents on anion and cation permeability of the human red blood cell. *J Gen Physiol.* 1971;58:190-210.
 28. Winslow JW. The reaction of sulfhydryl groups of sodium and potassium ion-activated adenosine triphosphatase with N-ethylmaleimide. *J Biol Chem.* 1981; 256:9522-9531.
 29. Sokol PP, Holohan PD and Ross CR. Essential disulfide and sulfhydryl groups for organic cation transport in renal brush-border membranes. *J Biol Chem.* 1986;261:3282-3287.
 30. Farber JL, Kyle ME and Coleman JB. Biology of disease: Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest.* 1990;62:670-679.
 31. Blumrich M and Petzinger E. Membrane transport of conjugated and unconjugated bile acids into hepatocytes is susceptible to SH-blocking reagents. *Biochem Biophys Acta.* 1990;1029:1-12.