

흰쥐의 肝損傷에 대한 加減茵芍桃花湯의 肝 보호효과

이태훈, 강제춘, 김병우

상지대학교 한의과대학 내과학교실

Protective effects of Gagaminjakdowha-Tang on liver injury of rats

Tae-houn Lee, Jae Chun Kang, Byong woo Kim

Department of Oriental Medicine, College of Oriental Medicine, Sangji University

Objectives : This study was done to investigate the protective effects of Gagaminjakdowha-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(200mg/kg administrated), sample II group(400mg/kg administrated), Silymarin(200mg/kg administrated) group. Liver injury of rats were induced by CCl₄ and d-galactosamine, and then the serumtransaminase(ALT & AST) alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH) for enzyme activities, Liver cytosol malondialdehyde(MDA), catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione S-transferase(GST) and glutathione-peroxidase(GPX) for enzyme activities were measured.

Results : The inhibitory effects on the serum ALT activities were noted in both sample I and sample II group. The inhibitory effects on the serum AST activities were noted in only sample II group. The inhibitory effects on the serum ALP activities were noted in both sample I and sample II group. The inhibitory effects on the serum LDH activities were noted in only sample II group. The inhibitory effects on the liver cytosol malondialdehyde were noted in only sample II group. The decreased effects on the liver cytosol catalase activities were inhibited in only sample II group. The decreased effects on the liver cytosol superoxide dismutase activities were inhibited in only sample II group. The decreased effects on the liver cytosol GST activities were inhibited in only sample II group. The decreased effects on the liver cytosol GPX activities were inhibited in only sample II group. The inhibitory effects of the serum ALT activities were noted in both sample I and sample II. The inhibitory effects of the serum AST activities were noted in only sample II group. The inhibitory effects of the serum ALP activities were noted in only sample II group. The inhibitory effects of the serum LDH activities were noted in both sample I and sample II group.

Conclusions : Gagaminjakdowha-Tang has protective effects against liver injury in rats induced by CCl₄ and d-galactosamine.

Key Words: Gagaminjakdowha-Tang, liver injury, d-galactosamine, CCl₄, Silymarin

I. 緒 論

한의학에서 肝臟의 기능은 主疏泄, 主藏血, 主風木氣, 主謀慮, 主筋'이고, 서양의학적으로는 암모니아에서 尿素를 集造的으로 生成하는 局所로써 赤血球의 生成·破壞를 담당하고 膽汁分泌, 解毒작용 및 滋養

· 접수 : 2002년 10월 11일 · 채택 : 2002년 12월 21일
· 교신저자 : 이태훈, 강원도 원주시 우산동 상지대부속 한방병원 내과외국
(Tel: 033-741-9382, E-mail: lth1406@freechal.com)

분을貯藏하는 기능을 갖고 있다.

현대사회는 안정된 생활과 풍부한 식생활 과도한 음주문화 등으로 고지혈증, 당뇨병, 알콜성 간질환이 증가하고 있으며, 고지방식, 고영양식 위주의 식사와 알콜 및 stress 과다 등으로³⁴ 實證 · 火熱性 간질환이 多發되는 실정이다.

이런 간질환은 韓醫學的으로 肝熱, 黃疸, 狐疝, 少腹痛, 胸滿, 嘔逆, 癃閉, 遺尿, 脇痛, 積聚, 鼓脹, 酒傷, 勞倦傷 등의 범주에 속하고,¹⁵ 治療法은 淸熱利濕, 疏肝理氣, 活血化瘀, 調理脾胃, 涼血養陰, 解毒 등이 있는데,⁵ 서양의학에서는 대증요법, steroid, 면역억제료법, 간장강화제, interferon, 항 virus 제재 및 인공 간 개발과 활용⁶⁷이 이루어지고 있다.

한편 현재까지 간질환에 대한 韓藥物의 연구로 茵陳蒿湯, 茵陳五苓散, 葛花解醒湯, 柴胡抑肝湯, 救肝開鬱湯, 柴胡四物湯, 積楊生肝湯, 三豆解醒湯, 加味對金飲子, 舟車丸 등의 급만성 간질환에 유의성 있는 치료효과가 보고되었으나, 實證의 火熱 瘀血로 인한 급성간질환에 대한 치료 연구는 부족한 상태다. 이에 著者는 현재 증가되는 濕熱 瘀血性 肝損傷에 활용 가능한 加減茵芍桃花湯을 선정하여 그 치료효과를 검토하고자 한다.

加減茵芍桃花湯은 茵陳, 赤芍藥, 梔子, 牡丹皮, 桃仁, 紅花, 丹蔘으로 構成된 茵芍桃花湯에 大黃, 黃連, 黃柏, 龍膽草를 加한 것으로, 太平聖惠方의 茵陳散⁸과 古今名方의 冠心2號⁹를 基礎로 立方된 것이다. 본 처방은 周楨禳¹⁰이 급성 황달형간염환자 100例에서 98%의 효율이 있다는 것을 관찰하였는데, 淸熱利濕 活血化瘀의 작용으로 退黃시간을 단축하고 증상을 輕減하여 肝脾回縮하는 작용이 있으므로 濕熱 瘀血로 인한 간질환에 활용 가능한 처방이라고 사료된다.

이에 加減茵芍桃花湯의 肝 보호효과를 객관적으로 검토하고자 사염화탄소(CCl₄) 및 d-galactosamine로 유발된 흰쥐의 肝損傷에 대해 血液中 transaminase (ALT&AST), alkaline phosphatase(ALP), lactic dehydrogenase(LDH)와 효소활성도, 肝臟 cytosol의 Malondialdehyde(MDA) 그리고 肝의 catalase와 Superoxide dismutase, glutathione S-transferase(GST),

glutathione peroxidase 효소활성도 등을 실험하여 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 실험재료

1) 실험재료

본 실험에서 사용한 약재는 시중 건재약국에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였으며 실험에 사용한 加減茵芍桃花湯의 처방내용 및 1첩 분량은 茵蔯 15g, 赤芍藥 8g, 梔子, 牡丹皮, 桃仁, 紅花, 丹蔘 各 6g, 大黃 5g, 黃連, 黃柏, 龍膽草 各3g하여 총 67g이다.

2) 검액의 調劑

加減茵芍桃花湯 10貼 분량 670g을 물로 2시간씩 2회 가열 추출한 후 여과하고 감압농축하여 동결건조기로 건조시킨 분말 102.0g(收得率 15.2%)을 각각 얻어 본 실험에 필요로 하는 농도로 희석하여 사용하였다.

3) 실험動物

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

2. 실험방법

1) 사염화탄소(CCl₄)에 의한 肝毒性에 미치는 影響 흰쥐 1군을 6마리로 하여 검액 200mg/kg(以下 sample I) 및 400mg/kg(以下 sample II)을 1일 1회 5일간 경구투여하고 최종투여 3시간 후에 olive oil에 용해시킨 20% 사염화탄소 1.0ml/100g을 경구투여하였다¹¹. 사염화탄소 투여 24시간 후에 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 한편 상법에 따라 간을 적출하여 아래의 방법으로 간을 균질화한 후 초원심분리하여 cytosol 분획을 얻었다. 혈청 중

transaminase (ALT & AST), alkaline phosphatase (ALP) 및 lactic dehydrogenase (LDH) 효소활성도를 아래의 방법에 따라 측정하였다. 그리고 肝의 cytosol 분획으로부터 malondialdehyde 함량, catalase, superoxide dismutase, glutathione-S-transferase 및 glutathione peroxidase 활성을 아래의 방법에 준하여 측정하여 비교관찰하였다. 대조군에는 생리식염수를 투여하였으며, 양성비교약물로는 silymarin 200mg/kg을 경구투여하여 비교관찰하였다.

2) d-galactosamine 유발 肝損傷에 대한 작용

흰쥐 1군을 6마리로 하여 sample I 과 sample II 를 각各 1일 1회 5일간 경구투여하고 최종투여 30분 후에 d-galactosamine 250mg/kg을 복강내 투여하였다. d-galactosamine 투여 후 24시간 동안 절식시키고 ether로 가볍게 마취시킨 다음 심장채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 혈청을 분리하였으며, 12 혈청중의 transaminase (ALT & AST) 활성도, lactic dehydrogenase(LDH) 활성도 및 alkaline phosphatase(ALP) 효소활성도를 아래의 방법에 준하여 측정하였다. 양성비교약물로는 silymarin 200mg/kg을 경구투여하여 비교관찰하였다.

3) 혈청중 효소활성도 측정

(1) 혈청중 Transaminase(ALT & AST) 활성도의 측정 : ALT와 AST 효소활성도의 측정은 Reitman & Frankel의 방법에 따라 ALT, AST kit시약을 사용하여 측정하였다.

(2) Alkaline phosphatase(ALP) 활성도의 측정 : 혈청중 ALP 효소활성도는 Kind-King법에 준하여 ALP-S kit시약을 사용하여 측정하였다.

(3) Lactic dehydrogenase(LDH) 활성도의 측정 : 혈청중 LDH 효소활성도의 측정은 젓산기질법을 이용하여 LDH-LQ kit시약을 사용하여 측정하였다.

4) 肝 Homogenate 中 효소활성 측정

(1) 肝으로부터 cytosol의 분리 : 肝으로부터의 cytosol 분리는 McCord 등의 방법에 준하여 측정하였다.

(2) 肝臟 cytosol의 Malondialdehyde(MDA) 함량측정 : Thiobarbituric acid를 이용한 Mitra 등의 방법을

이용하여 cytosol 中の malondialdehyde(MDA) 함량을 측정하였다.

(3) Catalase 효소활성측정 : Catalase 효소활성의 측정은 hydrogen peroxide의 분해에 따라 감소하는 흡광도를 측정하는 Aebi의 방법을 이용하였다.

(4) Superoxide dismutase 효소활성 측정 : Superoxide dismutase(SOD) 효소활성 측정은 pyrogallol autoxidation의 저해를 관찰하는 Marklund의 방법을 사용하였다.

(5) 肝 Homogenate 中 Glutathione S-transferase (GST) 활성 측정 : Habig 등의 방법에 준하여 0.1M phosphate buffer(pH 6.5) 300μl에 각檢體 cytosol 100 μl(blank는 A soln.)를 각각 가한 다음, 25℃에서 2분간 incubation하였다.

(6) Glutathione peroxidase activity : Glutathione peroxidase(GPX) 효소활성측정은 Flohe와 Gunzler의 방법에 준하였다.

3. 統計學的 分析

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

III. 實驗結果

1. 사염화탄소 유발 肝損傷에 대한 효과

1) 혈청 中 Transaminase(ALT & AST) 효소활성도에 대한 효과

흰쥐에 사염화탄소를 처치하면 血中の alanine aminotransferase(ALT) 활성은 4,621.0±260.6 Karmen unit로 사염화탄소 비치지 정상군의 혈청중 ALT활성인 587.0±30.5 Karmen unit에 비하여 p<0.001의 유의한 ALT활성의 증가를 보였다. Sample I 및 sample II에서 각각 3,913.7±230.1 Karmen unit와 3,576.0±212.4 Karmen unit로 대조군에 비하여 p<0.05와 p<0.01의 유의한 혈청중 ALT 상승효과가 관찰되었다.(Table 1)

또한, 혈청중 aspartate aminotransferase(AST)활성은

Table 1. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Serum Alanine Aminotransferase Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen Units)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	587.0±30.5	-
Control	-	4,621.0±260.6 ^{###}	-687.2
Sample I	200	3,913.7±230.1 [*]	14.5
Sample II	400	3,576.0±212.4 ^{**}	25.9
Silymarin	200	3,481.3±269.0 ^{**}	28.3

Values are means±S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal). # ; Significantly different from the normal value(###:p<0.001). * ; Significantly different from the control value(*:p<0.05 and **:p<0.01)

Table 2. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Serum Aspartate Aminotransferase Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Aspartate Aminotransferase Activities (Karmen Units)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	558.7±15.6	-
Control	-	1,619.7±143.1 ^{###}	-189.9
Sample I	200	1,329.3±152.3	27.4
Sample II	400	1,256.0±102.2 [*]	34.3
Silymarin	200	1,164.3±80.5 [*]	42.9

Values are means±S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal). # ; Significantly different from the normal value(###:p<0.001). * ; Significantly different from the control value(*:p<0.05)

사염화탄소 처치 대조군 1,619.7±143.13 Karmen unit로 사염화탄소 비처리 정상군의 558.7±15.6 Karmen unit에 비하여 p<0.001의 유의한 AST활성의 상승효과를 보였으며, sample II에서는 1,256.0±102.2 Karmen unit로 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 p<0.05의 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었고, sample I에서는 억제시키는 경향을 나타내었다.(Table 2) 그리고, 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 사염화탄소 처치 대조군에 비하여 유의한 ALT 및 AST 효소활성도 상승억제효과를 관찰할 수 있었다.

2) 혈청 中 Alkaline Phosphatase(ALP) 효소활성도에 대한 효과

사염화탄소로 처치한 대조군의 혈청중 ALP 효소활성도는 65.8±3.57 K-A unit로 비처리 정상군 19.6±1.90 K-A unit에 비하여 p<0.001의 유의한 ALP 효소활성도의 증가를 관찰할 수 있었다. sample I 및 sample II에서는 각각 50.6±4.76 K-A unit와 46.9±3.41 K-A unit로 대조군에 비하여 p<0.05와 p<0.01의

유의한 ALP 활성도 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 41.0±3.01 K-A unit로 대조군에 비하여 p<0.001의 유의성 있는 억제효과가 인정되었다.(Table 3)

3) 혈청 中 Lactic Dehydrogenase(LDH) 활성도에 미치는 효과

사염화탄소로 처치한 대조군의 혈청중 LDH 효소활성도는 16,600.5±1,673.5 Wroblewski unit로 비처리군의 혈청중 LDH 활성인 2,478.7±367.2 Wroblewski unit에 비하여 p<0.001의 유의한 LDH 활성의 증가를 보였다. Sample II에서는 11,248.0±707.5 Wroblewski unit로 대조군에 비하여 p<0.01의 유의한 억제효과를 관찰할 수 있었으며, Sample I에서는 다소 억제시키는 경향을 나타내었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 5,168.0±447.0 Wroblewski unit로 대조군에 비하여 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었다.(Table 5)

4) 흰쥐 肝 cytosol 中 Malondialdehyde 함량에 미치는 효과

Table 3. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Alkaline Phosphatase Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Serum Alkaline Phosphatase Activity (K-A unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	19.6 ± 1.90	-
Control	-	65.8 ± 3.57 ^{###}	-235.9
Sample I	200	50.6 ± 4.76 [*]	33.0
Sample II	400	46.9 ± 3.41 ^{**}	41.0
Silymarin	200	41.0 ± 3.01 ^{***}	53.8

Values are means ± S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal). #; 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)

Table 4. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Serum Lactate Dehydrogenase Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Lactate Dehydrogenase Activity (Wroblewski unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	2,478.7 ± 367.2	-
Control	-	16,600.5 ± 1,673.5 ^{###}	-569.7
Sample I	200	13,732.7 ± 1,420.5	20.3
Sample II	400	11,248.0 ± 707.5 ^{**}	37.9
Silymarin	200	5,168.0 ± 447.0 ^{***}	81.0

Values are means ± S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal). #; Significantly different from the normal value(###:p<0.001). *; Significantly different from the control value(**:p<0.01 and ***:p<0.001)

Table 5. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Liver Cytosol Malondialdehyde (MDA) Contents in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	MDA Contents(nmol/g of protein)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	3.2 ± 0.30	-
Control	-	4.4 ± 0.28 [*]	-37.0
Sample I	200	3.8 ± 0.31	46.5
Sample II	400	3.1 ± 0.26 ^{**}	107.0
Silymarin	200	3.2 ± 0.14 ^{**}	104.2

Values are means ± S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of CCl₄ control-values of sample)/(values of CCl₄ control-values of normal). #; Significantly different from the normal value(#:p < 0.05). *; Significantly different from the control value(**:p<0.01)

사염화탄소를 처치한 대조군의 MDA 함량은 4.4 ± 0.28nmol/g of protein으로 사염화탄소 비처리 정상군의 3.2 ± 0.30nmol/g of protein에 비하여 p<0.05의 유의한 증가를 관찰할 수 있었다. Sample II에서는 3.1 ± 0.26nmol/g of protein으로 대조군에 비하여 p<0.05의 유의한 상승억제효과를 나타내었고, Sample I은 대조군에 비하여 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 3.2 ± 0.14nmol/g of protein으로 대조군에 비하여 p<0.01의 유의한 증가억제효과가 관찰되었다.(Table 5)

5) 흰쥐 肝 cytosol 中 catalase 효소활성에 미치는 효과

사염화탄소를 처치한 대조군의 catalase 효소활성은 401.3 ± 23.7U/min/mg of protein으로 사염화탄소 비처리 정상군의 484.0 ± 25.9U/min/mg of protein에 비하여 p<0.05의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample II에서는 472.7 ± 18.9U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 p<0.05의 유의한 감소억제효과를 나타내었고, Sample I은 457.2 ± 24.4U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 감소를 억제시키는 경향을 보이거나 유의차는 없었다. 양성비교약물

silymarin 200mg/kg 투여군에서는 470.3 ± 21.2 U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 감소억제효과가 관찰되었다.(Table 6)

6) 흰쥐 肝 cytosol 中 superoxide dismutase 효소활성에 미치는 효과

사염화탄소를 처치한 대조군의 SOD 효소활성은 29.5 ± 2.62 U/min/mg of protein으로 사염화탄소 비처리 정상군의 39.8 ± 3.96 U/min/mg of protein에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample II에서 38.5 ± 2.45 U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의성이 있는 감소억제효과가 인정되었고, Sample I에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 41.2 ± 4.21 U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 감소억제효과가 관찰되었다.(Table 7)

7) 흰쥐 肝 cytosol 中 Glutathione-S-Transferase 효소활성에 미치는 효과

사염화탄소를 처치한 대조군의 GST 효소활성은 359.0 ± 27.9 U/min/mg of protein으로 사염화탄소 비처리 정상군의 512.0 ± 33.4 U/min/mg of protein에 비하여 $p < 0.01$ 의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. Sample II에서는 446.0 ± 18.3 U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 효소활성 감소억제효과를 나타내었으며, Sample I에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 446.3 ± 14.3 U/min/mg of protein으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 감소억제효과가 관찰되었다.(Table 8)

Table 6. Effects of Gagaminjakdowha-Tang on Liver Cytosol Catalase Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats.

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Catalase activities(U/min/mg of protein)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	484.0 ± 25.9	-
Control	-	$401.3 \pm 23.7^{\#}$	-17.1
Sample I	200	457.2 ± 24.4	67.5
Sample II	400	$472.7 \pm 18.9^*$	86.3
Silymarin	200	$470.3 \pm 21.2^*$	83.5

Values are means \pm S.E. of 6 rats. The values in parenthesis are % of protection that is calculated as $100(\text{values of CCl}_4 \text{ control} - \text{values of sample}) / (\text{values of CCl}_4 \text{ control} - \text{values of normal})$. #; Significantly different from the normal value($\#p < 0.05$). *; Significantly different from the control value($*p < 0.05$)

Table 7. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Liver Cytosol SOD Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	SOD activities(U/min/mg of protein)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	39.8 ± 3.96	-
Control	-	$29.5 \pm 2.62^{\#}$	-25.9
Sample I	200	32.3 ± 3.33	27.4
Sample II	400	$38.5 \pm 2.45^*$	87.1
Silymarin	200	$41.2 \pm 4.21^*$	112.9

Values are means \pm S.E. of 6 rats. The values in parenthesis are % of protection that is calculated as $100(\text{values of CCl}_4 \text{ control} - \text{values of sample}) / (\text{values of CCl}_4 \text{ control} - \text{values of normal})$. #; Significantly different from the normal value($\#p < 0.05$). *; Significantly different from the control value($*p < 0.05$)

Table 8. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Liver Cytosol GST Activities in CCl4-induced Experimental Liver Injury in Rat

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	GST activities(U/min/mg of protein)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	512.0 ± 33.4	-
Control	-	$359.0 \pm 27.9^{\#}$	-29.9
Sample I	200	387.5 ± 25.9	18.6
Sample II	400	$446.0 \pm 18.3^*$	56.9
Silymarin	200	$446.3 \pm 14.3^*$	57.1

8) 흰쥐 肝 cytosol 中 Glutathione peroxide 효소활성에 미치는 효과

사염화탄소를 처치한 대조군의 GPX 효소활성은 $4.3 \pm 0.27 \text{U/min/mg of protein}$ 으로 사염화탄소 비처리 정상군의 $3.0 \pm 0.43 \text{U/min/mg of protein}$ 에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 효소활성증가를 관찰할 수 있었다. Sample II에서는 $3.0 \pm 0.40 \text{U/min/mg of protein}$ 으로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 효소활성증가 억제효과를 나타내었으며, Sample I에서는 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 $3.2 \pm 0.17 \text{U/min/mg of protein}$ 으로 대조군에 비하여 $p < 0.01$ 의 유의한 증가억제효과가 관찰되었다.(Table 9)

2. d-galactosamine 유발 肝損傷에 대한 효과

1) 혈청 中 Transaminase(ALT & AST) 효소활성도에 대한 효과
 흰쥐에 d-galactosamine을 처치하면 혈중의

transaminase활성이 현저히 증가되어 병태가 유발됨을 알 수 있었다. d-galactosamine 처치 대조군의 혈청 중 ALT 활성은 $851.2 \pm 44.4 \text{ Karmen unit}$ 로 비처리 정상군의 혈청 중 ALT 효소활성도 $586.8 \pm 48.1 \text{ Karmen unit}$ 에 비하여 $p < 0.01$ 의 유의한 ALT 효소활성의 증가를 보였다. Sample I 및 Sample II에서는 각각 $723.4 \pm 32.2 \text{ Karmen unit}$ 와 $661.1 \pm 21.2 \text{ Karmen unit}$ 로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 와 $p < 0.01$ 의 유의한 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 투여군에서의 ALT 효소활성은 $640.1 \pm 41.0 \text{ Karmen unit}$ 로 $p < 0.01$ 의 유의한 ALT상승억제효과를 보였다.(Table 10)

또한, 혈청 중 aspartate aminotransferase(AST) 활성은 d-galactosamine 비처리군 정상군의 $156.9 \pm 8.4 \text{ Karmen unit}$ 에 비하여 d-galactosamine 처치 대조군의 $329.8 \pm 32.3 \text{ Karmen unit}$ 로 $p < 0.001$ 의 유의한 AST활성의 상승효과를 보였다. Sample II에서는 $213.9 \pm 29.4 \text{ Karmen unit}$ 로 대조군에 비하여 $p < 0.05$ 의 유의한 AST 활성도 상승억제효과를 관찰할 수 있었으며

Table 9. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Liver Cytosol GPX Activities in CCl₄-induced Experimental Liver Injury in Rat

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	GPX activities(U/min/mg of protein)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	3.0 ± 0.43	-
Control	-	$4.3 \pm 0.27^{\#}$	-44.4
Sample I	200	3.9 ± 0.37	29.1
Sample II	400	$3.0 \pm 0.40^*$	94.9
Silymarin	200	$3.2 \pm 0.17^{**}$	81.0

Values are means \pm S.E. of 6 rats. The values in parenthesis are % of protection that is calculated as $100(\text{values of CCl}_4 \text{ control-values of sample})/(\text{values of CCl}_4 \text{ control-values of normal})$. #; Significantly different from the normal value(##: $p < 0.01$). *; Significantly different from the control value(*: $p < 0.05$ and **: $p < 0.01$)

Values are means \pm S.E. of 6 rats. The values in parenthesis are % of protection that is calculated as $100(\text{values of CCl}_4 \text{ control-values of sample})/(\text{values of CCl}_4 \text{ control-values of normal})$. #; Significantly different from the normal value(##: $p < 0.01$). *; Significantly different from the control value(*: $p < 0.05$)

Table 10. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Serum Alanine Aminotransferase Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Alanine Aminotransferase Activities (Karmen Units)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	586.8 ± 48.1	-
Control	-	$851.2 \pm 44.4^{\#}$	-45.1
Sample I	200	$723.4 \pm 32.2^*$	48.3
Sample II	400	$661.1 \pm 21.2^{**}$	71.9
Silymarin	200	$640.1 \pm 41.0^{**}$	79.8

Values are means \pm S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as $100(\text{values of d-galactosamine control-values of sample})/(\text{values of d-galactosamine control-values of normal})$. #; Significantly different from the normal value(##: $p < 0.01$). *; Significantly different from the control value(*: $p < 0.05$ and **: $p < 0.01$)

Sample I에서는 252.9±23.4 Karmen unit로 대조군에 비하여 억제시키는 경향을 보이거나 유의차는 없었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 208.1±12.6 Karmen unit로 p<0.01의 유의한 AST 상승억제효과를 보여 주었다.(Table 11)

2) 혈청 中 Alkaline Phosphatase(ALP) 효소활성도에 대한 효과

d-galactosamine으로 처치한 대조군의 혈청중 ALP 효소활성도는 69.3±3.70 K-A unit로 비처리 정상군 43.0±4.89 K-A unit에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. Sample II에서는 53.0±5.24 K-A unit로 대조군에 비하여 p<0.05의 유의한 증가억제효과가 관찰되었으며 Sample I에서도 억제시키는 경향을 보여 주었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 58.0±3.75 K-A unit로 p<0.05의 유의한 ALP 효소활성도 상승억제효과가 인정되었다.(Table 12)

3) 혈청 中 Lactic Dehydrogenase(LDH) 활성도에 미치는 효과

d-galactosamine 처치 대조군의 혈청중 LDH 효소활성은 16,576.7±1,943.2 Wroblewski unit으로 d-galactosamine 비처리 정상군의 1,877.5±250.7 Wroblewski unit에 비하여 p<0.001의 유의한 LDH 활성의 증가를 보였다. Sample I 및 Sample II에서는 각각 11,930.0±616.0 Wroblewski unit와 8,885.8±916.6 Wroblewski unit로 대조군에 비하여 p<0.05와 p<0.01의 유의한 상승억제효과가 인정되었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 8,111.7±691.3 Wroblewski unit로 p<0.001의 유의한 LDH 상승억제효과가 인정되었다.(Table 13)

IV. 考 察

2000년도 통계청 자료에 의하면 간암에 의한 사망자는 10만명당 23.7명으로 세계 1위이고, 간경화등 만성 간질환에 의한 사망자는 28.8명으로 세계 3위로 보고되고 있다¹³. 이처럼 간질환 사망율이 다른 나라들에 비하여 유독 높게 나타나고 있는 반면 치료

Table 11. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Serum Aspartate Aminotransferase Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Aspartate Aminotransferase Activities (Karmen Units)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	156.9±8.4	-
Control	-	329.8±32.3 ^{###}	-110.2
Sample I	200	252.9±23.4	44.5
Sample II	400	213.9±29.4*	67.0
Silymarin	200	208.1±12.6 ^{**}	70.4

Values are means±S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of d-galactosamine control-values of sample)/(values of d-galactosamine control-values of normal). #: Significantly different from the normal value(###: p < 0.001). *: Significantly different from the control value(*: p<0.05 and **: p<0.01)

Table 12. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Alkaline Phosphatase Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Serum Alkaline Phosphatase Activity (K-A unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	43.0±4.89	-
Control	-	69.3±3.70 ^{###}	-61.2
Sample I	200	63.3±2.38	22.8
Sample II	400	53.0±5.24*	62.0
Silymarin	200	58.0±3.75*	43.0

Values are means±S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of d-galactosamine control-values of sample)/(values of d-galactosamine control-values of normal). #: Significantly different from the normal value(###: p < 0.001). *: Significantly different from the control value(*: p<0.05)

Table 13. Effects of Gagamsoganbubi-Tang on Serum Lactate Dehydrogenase Activities in Galactosamine-induced Experimental Liver Injury in Rats

Group	Dose(mg/kg/day, p.o)	Lactate Dehydrogenase Activity (Wroblewski unit)	Therapeutic Rate(%)
Normal	-	1,877.5 ± 250.7	-
Control	-	16,576.7 ± 1,943.2 ^{###}	-782.9
Sample I	200	11,930.0 ± 616.0*	31.6
Sample II	400	8,885.8 ± 916.6**	52.3
Silymarin	200	8,111.7 ± 691.3 ^{###}	57.6

Values are means ± S.E. of 6 rats. Therapeutic rates are % of protection that is calculated as 100(values of d-galactosamine control-values of sample)/(values of d-galactosamine control-values of normal) #; 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)

연구는 미흡한 실정이다. 특히 현대사회는 과도한 음주분화와 정신 stress, 고영양식 등으로 實證 · 火熱性 병변이 동반되는 간질환이 다발할 가능성이 많다.

본 실험에 사용된 加減茵芍桃花湯은 茵陳, 赤芍藥, 梔子, 牡丹皮, 桃仁, 紅花, 丹蔘으로 구성된 茵芍桃花湯에 火熱性 病變의 치료에 중점을 두고 大黃, 黃連, 黃栢, 龍膽草를 가미한 것으로, 周楨禴¹⁰ 등이 급성황달형 간염환자 100례에 사용하여 98%의 효율이 있다고 보고하였다. 본 처방은 太平聖惠方의 茵蔯散²¹과 古今名方의 冠心2號²²를 기초로 입방하였는데, 方中의 大黃 桃仁 紅花는 腸胃의 瘀熱壅滯를 疏通시키고, 黃連 黃栢 龍膽草는 胸膈 肝膽 腸胃에 대하여 清熱 燥濕하며, 腸胃의 濕熱 老廢物阻滯로 인한 肝膽 胸膈의 過負荷 및 血管瘀阻를 茵蔯 赤芍藥 牡丹皮 梔子 丹蔘이 해소한다⁶⁴⁻⁶⁵). 그러므로 腸胃에 老廢物壅滯로 인한 肝膽腸胃의 濕熱亢進과, 血管阻滯로 血流障礙가 유발되어 發生되는 급성황달형간염, 담도폐쇄, 급성간질환, 간성혼수 등 實熱 瘀血性 간담도질환에 치료효과가 있을 것으로 사료된다. 이에 加減茵芍桃花湯의 기초 약물학적 측면에서 간 보호효과에 미치는 영향을 검토하였다.

sample I에서는 ALT 및 AST 효소활성도에 있어 14.5%와 27.4%의 유의한 치료효과가 있었던 반면에, sample II에서는 검액투여로 대조군에 비하여 ALT 및 AST 효소활성도에 대하여 각각 25.9%와 34.3%의 유의한 치료효과가 인정되었는데 이는 검액의 용량의존적임을 알 수 있었다. 혈청 中 ALP 및

LDH 효소활성도 역시 비처치 정상군에 비하여 각각 235.9%와 569.7%의 유의한 효소활성도의 상승을 나타내었고, 血中 ALP 효소활성도에 대하여 sample I 과 sample II는 생리식염수만을 처치한 대조군에 비하여 각각 33.0%와 41.0%의 유의한 치료효과를 나타내었으며, LDH 효소활성도에 대해서도 sample II에서 37.9%의 유의한 치료효과가 인정되었다. 또한 사염화탄소 처치로 유발된 肝損傷 흰쥐 肝의 cytosol 中에 함유된 MDA량은 비처치 정상군에 비하여 약 37.0%의 유의한 증가가 인정되었는데, sample II에서는 107.0%의 유의한 치료효과가 인정되어 거의 정상치로 회복되었고, sample I에서도 46.5%의 치료효과를 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았지만 검액의 용량의존적으로 지질과산화물 생성억제효과를 나타냄을 관찰할 수 있었다. sample II는 86.3%의 유의한 치료효과가 인정되었고, sample I에서는 67.5%의 치료효과를 보이나 통계적으로 유의차는 인정되지 않았다. SOD 효소활성도는 정상군에 비하여 25.9%의 유의한 감소가 인정되었다. sample II에서는 87.1% 유의한 치료효과가 인정되었고 sample I에서도 27.4%의 치료효과를 나타내어 검액의 용량의존적임을 알 수 있었다.

또한 肝 균질화물 GST 효소활성에 대하여 사염화탄소 처치 대조군은 비처치 정상군에 비하여 약 29.9%의 유의한 감소를 보였으며, sample II에 비하여 56.9%의 유의한 치료효과가 인정되었고, sample I에서는 18.6%의 치료효과를 보이나 통계적으로

유의차는 인정되지 않았다. GPX 효소활성도는 사염화탄소 처치 대조군은 비처리 정상군에 비하여 44.4%의 유의한 증가를 나타내었고, sample I에서는 대조군에 비하여 94.9%의 유의한 치료효과가 인정되어 거의 정상으로 회복됨이 관찰되었으며 이러한 효과는 검액의 용량의존적이었다. 또한, 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 처치군에서도 사염화탄소 처치로 유발된 肝損傷 흰쥐에서 肝損傷 지표로 이용한 각종 parameter에서 유의한 肝보호효과가 인정되었다. 흰쥐에 d-galactosamine를 복강내에 주사하여 유발된 肝損傷에 대한 억제효과를 흰쥐의 혈청 중의 transaminase(ALT & AST), alkaline phosphatase (ALP), lactic dehydrogenase(LDH) 등의 효소활성도 등을 지표로 하여 평가하였다. d-galactosamine만을 투여한 대조군은 d-galactosamine를 처치하지 않은 정상군에 비하여 혈청 中 ALT, AST, LDH, ALP의 효소활성도에 있어 각각 약 45.1%, 110.2%, 61.2% 및 782.9%의 유의한 증가가 인정되어 肝損傷 병태모델이 작성됨이 인정되었다. 肝損傷에 기인하여 혈청으로 이행되는 transaminase 효소활성에 미치는 검액 加減茵芍桃花湯의 효과를 평가한 바 ALT 및 AST 효소활성도는 sample I에서 각각 71.9%와 67.0%의 유의한 치료효과가 인정되었고 검액의 용량의존적이었다. 또한 혈청 中 ALP 효소활성도에 대해서는 sample I에서 대조군에 비하여 62.0%의 유의한 치료효과가 인정되었으며 저농도 처치군에서는 억제시키는 경향을 나타내었다. 그리고, LDH 효소활성도는 sample I에서는 대조군에 비하여 52.3%의 유의한 효소활성 상승억제효과가 인정되었고 이러한 효과는 검액의 용량의존적임을 알 수 있었다. d-galactosamine 처치로 유발된 肝損傷 흰쥐에서 肝보호효과는 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 투여군에서는 각 parameter에서 galactosamine 처치 대조군에 비하여 유의한 肝보호효과를 나타냄이 인정되었다.

이상의 실험결과를 종합하면 加減茵芍桃花湯 추출물은 사염화탄소 처치로 유발된 肝損傷 흰쥐에 대하여 혈청중 肝損傷 지표인 transaminase, lactic

dehydrogenase 및 alkaline phosphatase 효소활성도에 대하여 검액의 용량의존적인 억제효과가 인정되었다. 그리고, 肝 균질화물의 cytosol 분획에서의 malondialdehyde 함량, catalase, superoxide dismutase, glutathione-S-transferase 및 glutathione peroxide 효소활성도에 대한 유의한 치료효과가 인정되어 사염화탄소 肝損傷에 대한 加減茵芍桃花湯의 추출물의 보호효과가 관찰되었다. 그리고, 또 다른 肝損傷 병태모델 作成약물인 d-galactosamine 처치 유발 흰쥐 肝損傷에 대한 加減茵芍桃花湯 추출물 처치에 의하여 혈청 parameter인 ALT, AST 및 LDH 효소활성도는 d-galactosamine 처치 대조군에 비하여 유의한 개선효과가 인정되었다. 따라서 加減茵芍桃花湯은 肝損傷에 대해 보호효과가 있는 것으로 사료되며, 향후 임상 및 실험실에서 약물 상호간의 기전 및 작용에 대한 연구와 활용이 요구된다.

V. 結 論

加減茵芍桃花湯의 효능을 실험적으로 규명하기 위하여 실험동물에 加減茵芍桃花湯 전탕 농축액을 경구투여하여 효소활성도 및 혈청성분과 肝 Homogenate 중 효소활성도에 있어 肝보호효과를 실험하였다. 혈청중 효소활성도에 있어 transaminase (ALT & AST), ALP, LDH를, 肝 Homogenate 중 효소활성에 있어 MDA, Catalase, Superoxide dismutase, GST, GPX를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 사염화탄소로 유발된 肝損傷에 대한 효과

1) 혈청중 ALT 활성은 sample I 과 sample II에서 각각 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 의 유의성있는 활성억제효과를 나타내었고, 혈청중 AST 활성은 sample II에서만 $p < 0.05$ 의 유의성있는 활성억제효과가 인정되었다.

2) 혈청중 ALP 활성은 sample I 과 sample II에서 각각 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 의 유의성 있는 활성억제효과가 인정되었고, 혈청중 LDH 활성은 sample II에서만 $p < 0.01$ 의 유의성 있는 활성억제효과가 인정되었다.

3) 肝 cytosol 中 MDA 함량은 sample II에서만

p<0.05의 유의성있는 상승억제효과를 나타내었고, 肝 cytosol 中 catalase 효소활성도는 sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 감소억제효과를 나타내었다.

4) 肝 cytosol 中 SOD 효소활성도는 Sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 감소억제효과를 나타내었고, 肝 cytosol 中 GST 효소활성도는 sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 감소억제효과를 나타내었으며, 肝 cytosol 中 GPX 효소활성도는 Sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 증가억제효과를 나타내었다.

2. d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대한 효과

1) 혈청중 ALT 활성은 sample I 과 sample II 에서 각각 p<0.05, p<0.01의 유의성있는 활성억제효과를 나타내었고, 혈청중 AST 활성은 sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 활성억제효과를 나타내었다.

2) 혈청중 ALP 활성은 sample II 에서만 p<0.05의 유의성있는 활성억제효과를 나타내었고, 혈청중 LDH 활성은 Sample I 과 sample II 에서 각각 p<0.05, p<0.01의 유의성있는 감소억제효과를 나타내었다.

이상의 실험결과를 종합하여 보면 加減茵芍桃花湯은 CCl4 및 d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대해서 肝보호효과가 인정되었으며 앞으로 계속하여 약물상호간의 작용 및 병리기전에 대하여 실험적 연구가 필요하리라 사료된다.

參考文獻

1. 全國韓醫科大學 肝系內科學教授 共著, 肝系內科學, 서울; 東洋醫學연구원, 1989
2. 趙憲泳, 通俗韓醫學原論, 서울; 學林社, 1990; 152.
3. 高麗醫學編輯部. 소화기질환. 서울; 고려의학, 1989; 144-92.
4. 김경희. 한국인 non-A, non-B 간질환에서의 C형 간염 바이러스 항체(anti HCV)의 검출에 대한 연구. 대

- 한내과학회잡지. 1990; 39 : 148-53.
5. 金完熙, 崔達永, 臟腑辨證論治, 서울; 成輔社, 1985; 139-40, 150-65.
6. 瑞光醫學書林編輯部. 肝臟病的 診斷學. 광주: 瑞光醫學書林; 1991. 115-7, 375-6, 439-40.
7. 왕희정, 인공 간 보조장치, 아주대 의과대학 외과학교실. 2001.
8. 王懷隱 等 編. 太平聖惠方. 平常心出版社. 1685.
9. 楊蘊祥 劉翠榮. 古今名方. 한국메디칼인텍스사. 1975; 233.
10. 周楨禴, 肝膽病效方230首, 北京; 科學技術文獻出版社, 1995; 27,28
11. 東西醫學融合연구會 編. 臨床東西醫學, 서울; 永林社, 1997; 210-7, 219-27.
12. 統計廳, 2000年度 死亡原因 統計결과, 서울; 2001
13. 李鳳教. 韓方診斷學. 서울. 成輔社; 1992; 58-62.
14. Y. Niiho et al. :Pharmacological Studies on Puerariae Flos. II. The effects of Puerariae Flos on Alcohol-Induced Unusual Metabolism and Experimental Liver Injury in Mice, YAKUKAGU ZASSHI., 110, 604(1990)
15. S. Takeda, S. Funo, A. Iizuki, Y. Kase, I. Arai, Y. Ohkura, K. Sudo, N. Kiuchi, C. Yoshida, S. Maeda, M. Aburada and E. Hodoya : Pharmacological studies on schizandra fruits. III. Effects of wuweizisu C, a lignan component of schizandra fruits, on experimental liver injuries in rats. Folia Pharmacol. Japon., 85, 193 (1985)
16. 全國 韓醫科大學 本草學 教授 共編著, 本草學, 서울; 永林社, 1991; 167, 180-2, 184, 193, 195, 242, 328, 419, 423-4
17. 康秉秀, 金永坂, 臨床配合本草學, 서울; 圖書出版 永林社, 1996; 225, 273, 283, 29-4, 357, 380, 382, 416, 507, 549
18. 申佶求, 申氏本草學, 서울; 壽文社, 1973: 390, 519, 521, 554, 562, 641-53, 661, 669, 694,
19. 李商仁 外, 漢藥臨床應用, 서울; 成輔社, 1986; 68, 92, 108, 116-7, 119, 156, 269, 284-7.
20. 陳存仁, 陳存仁本草; 30-3, 43, 50, 98, 116, 129-30.