

舟車丸이 CCl₄ 및 d-galactosamine으로 유발된 흰쥐의 肝損傷에 미치는 영향

최은주, 강제춘

상지대학교 한의학대학원, 상지대학교 한의과 대학교 간계내과학교실

Protective effects of *Jucha-whan* on liver injury of guinea pigs induced by CCl₄ and d-galactosamine

Eun Jü Choi, Jae Chun Kang

Graduate School of Oriental Medicine, Sangji University, Department of Internal Medicine,
College of Oriental Medicine, Sangji University

Objective : In order to investigate the curative effect of *Jucha-whan* on the protective liver of guinea pigs induced by CCl₄ and d-galactosamine, serum transaminase(GOT, GPT), lactic dehydrogenase(LDH), alkaline phosphatase(ALP), glutathione S-transferase(GST), superoxide dismutase(SOD) were used to measure enzyme activities and lipid peroxide level.

Method : The subject animals were divided into 5 groups; a control group(untreated), a subject group(administered with 0.9% Saline solution), a sample I (500mg/kg administered), sample II group (1000mg/kg administered), positive control group(administered with 200mg/kg silymarine).

Result : The inhibitory effects on the serum GOT, LDH, ALP, SOD and Lipid peroxide level activities in protective liver of mice induced by CCl₄ were noted both in the sample I group and sample II . The inhibitory effects on the serum GPT activities in protective liver of guinea pigs induced by CCl₄ were noted in sample II group, but it was not noted in the sample I . The inhibitory effects on the GST activities in protective liver of guinea pigs induced by CCl₄ were not noted in both sample I and sample group II . The inhibitory effects on the serum GOT, GPT activities in protective liver of guinea pigs induced by d-galactosamine were noted in both sample I and sample II , but it was not recognizable statistically. The inhibitory effects on the serum LDH activities in protective liver of guinea pigs induced by d-galactosamine were noted in sample II , but it was not noted in sample I group.

Conclusion : According to the above results, it is considered that *Jucha-whan* has treatment effects on liver injury in guinea pigs induced by CCl₄ and d-galactosamine. So it is required to study about the actions of mutual relation of medicines and patho- mechanism through experiment.

Key Words: *Jucha-whan*, CCl₄

1. 緒 論

· 접수 : 2002년 10월 11일 · 채택 : 2002년 12월 20일
· 교신저자 : 최은주, 강원도 원주시 우산동 상지대학교
한의학대학원
(E-mail: np-ej@hanmail.net)

肝은 橫膈膜 下部의 右脇肋骨部에 부착되어 있는 장기로 주요 기능은 疏泄과 藏血을 主管하는데 있는데^{1,2} 여러가지 유발요인, 즉 六淫七情, 酒毒, 氣鬱, 瘀

血, 房室過多, 飲食失節, 體質虛弱 등에 의하여³ 肝의 생리기능에 不調和가 발생되는 것이 肝의 病理 狀態이다. 內經에서는 肝질환에 대하여 “肝病者兩脇下痛引少腹 令人善怒”, “肝熱病者 小便先黃 腹痛 多臥身熱 熱爭則狂言及驚 脇滿痛 手足躁 不得安臥”라 하였고 역대 문헌의 肝과 관련된 질환으로는 潰疔, 狐疔, 小腹痛, 噎乾, 面塵, 脫色, 胸滿, 嘔 遺尿, 脇痛, 黃疸, 積聚, 脹脹 등의 病症이 기록되어 있다.⁴ 이와 같은 肝疾患의 증상들은 주로 肝臟 疏泄機能의 이상으로 인한 肝氣鬱結, 肝陽上亢, 肝火熾盛, 肝風內動, 寒滯肝脈, 肝陰血不足 등으로 나타나는 바⁵ 그 치료법은 淸熱利濕, 疏肝理氣, 活血化痰, 調理脾胃, 涼血養陰, 害毒 등이 된다.^{4,6} 서양의학적으로는 肝질환의 영역에 肝炎, 肝硬變症, 肝腫瘍, 肝디스토마증, 肝梅毒 및 肝昏睡 등이 있으며⁷ 그 원인으로는 바이러스의 감염, 약물중독, 지속적인 음주, 免疫疾患, 膽道閉鎖, 대사장애 등이 있다.⁷ 근래에는 생활이 안정되고 식생활이 풍부해지면서 高脂肪食이나 高칼로리 위주의 식사와 영양소의 불균형한 편중섭취 등으로 高脂血症, 糖尿病, 脂肪肝 등 肝질환이 증가하고 있으며 이밖에도 약물이나 공해 등 여러 가지 형태의 주위환경으로 부터의 중독에 의해서도 肝損傷을 일으키는 바 이러한 실정에 비추어 볼 때 肝臟病 치료약에 대한 다각적인 연구가 요구된다.⁸ 舟車丸은 金·劉河間에 의해 제조된 처방으로 일체의 水濕을 치료하여 陽水의 腫脹을 치료하는 목적으로 역대 醫家들에 의해 활용되어왔다. 따라서 舟車丸은 肝炎, 肝硬化, 肝癌 등 각종 肝疾患에서 나타날 수 있는 腹水症에 대한 치료효과를 발휘하므로 일정한 肝 保護효과를 가질 것으로 사료된다. 현재까지의 肝질환에 대한 韓藥物의 연구로 茵陳五苓散⁹, 柴胡抑肝湯¹⁰, 救肝開鬱湯¹¹, 柴胡四物湯¹², 小柴胡湯加鹿茸¹³, 三豆解醒湯¹⁴ 등이 肝질환에 대하여有意한 肝 保護효과가 있음을 보고한 바 있으며, 특히 金¹⁵ 등은 舟車丸을 구성하는 약재들 가운데 하나인 牽牛子(黑丑)가 肝機能이 저하된 집토끼에게 투여되어 일정한 肝 保護효과를 발휘하였음을 보고하였다. 그러나 현재까지 舟車丸이 肝損傷에 미치는 효과에 대한 실험적 연구가 보고된 바 없었다. 이에 저

자는 舟車丸이 肝障害에 미치는 영향을 검토하고자 사염화탄소(CCl4)로 유발된 肝障害와 d-galactosamine으로 유발된 肝障害에 대한 肝 保護효과를 血清中 Transaminase (GOT & GPT), Lactic Dehydrogenase (LDH) 및 alkaline phosphatase(ALP) 酵素活性도와 肝 및 腦中 脂質過酸化 그리고 肝의 glutathion S-transfer ase(GST)와 superoxide dismutase(SOD) 酵素活性도를 지표로 실험하여 有意性 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 藥材

본 실험에 사용한 舟車丸의 1貼分量은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	容量(g)
黑丑	<i>Pharbitidis Semen</i>	4.0
大黃	<i>Rhei Undulati Rhizoma</i>	2.0
甘遂	<i>Euphorbiae Rhizoma</i>	1.0
大戟	<i>Euphorbiae Radix</i>	1.0
莞花	<i>Daphnis Genkwae Flos</i>	1.0
木香	<i>Helenii Radix</i>	0.5
青皮	<i>Aurantii pericarpium</i>	0.5
陳皮	<i>Aurantii Nobilis Pericarpium</i>	0.5
檳榔	<i>Arecae Semen</i>	0.5
輕粉	<i>Calomelas</i>	0.1
總量		11.1

2) 檢液의 調製

舟車丸 40貼 분량 444g을 물로 2시간씩 2회 가열 추출한 후 여과하고 감압 농축하여 凍結乾燥機로 건조시킨 분말 57.0g(收得率 12.8%)을 각각 얻어 본 실험에 필요로 하는 농도로 희석하여 사용하였다.

3) 試藥 및 機具

試藥으로는 Glutathione, Xanthine, Xanthine oxidase 등은 Sigma사(美國), Thiobarbituric acid는 BDH Chemical사(英國), Trichloro acetic acid는 Lancaster사(英國), GOT & GPT, LDH 및 ALP 측정용 kit 試藥은 아산제약(주)로부터 구입하여 사용하였으며, 그 밖의 試藥은 특급시약을 사용하였다. 본 실험에 사용한 기

계는 Nihonseiki kaisha LTD(日本)의 AM-7 homogenizer, 선일 Analab water bath KSB-55, 減壓濃縮機는 東京理化學株式會社(日本)의 Model NE-1, 凍結乾燥機는 東京理化學株式會社(日本)의 Model FD-1, 흡광광도계는 Shimadzu사(日本)의 Model UV-160A 등을 사용하였다.

4) 動物

본 실험에 사용한 실험동물로는 中央動物飼育場에서 구입한 Sprague-Dawley계 흰쥐(♂) 체중 180 ~ 220g을 사용하였으며, 사료로는 固形飼料(삼양유지사료(주))로 사육하였고, 물은 충분히 공급하였다. 실험은 실험동물을 실험실 환경에 2주간 순응시킨 후에 사용하였고, 특별한 조건이 없는 한 24±2℃에서 실시하였다.

2. 方法

1) CCl₄ 誘發 肝損傷에 對한 肝 保護효과

흰쥐 1群을 6마리로 하여 檢液 500mg/kg投與群(以下 Sample I) 및 1,000mg/kg投與群(以下 Sample II)을 각각 1일 1회 5일간 經口投與하고 최종투여 3시간후에 20% CCl₄ 1.0ml/100g(Olive oil로 희석)을 經口投與하였다. CCl₄ 투여 24시간후에 心臟채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 遠心分離하여 血清을 分離하였으며, 한편 上法에 따라 肝을 적출하여 肝의 습중량을 측정하여 비교관찰하였다. 血清中 transaminase (GOT & GPT), alkaline phosphatase(ALP) 및 lactic dehydrogenase(LDH) 酵素活性도를 아래의 방법에 따라 측정하였다. 그리고, 肝 및 腦를 採血이 종료된 후 적출하여 脂質過酸化물 측정용으로 하여 아래의 방법에 준하여 측정하였으며, 또한 肝中の glutathione S-transferase(GST) 및 superoxide dismutase(SOD) 酵素活性도를 아래의 방법에 준하여 측정하여 비교관찰하였다. 對照群에는 生理食鹽水を 經口投與하였으며, 양성비교약물로는 silymarin 200mg/kg을 經口投與하여 비교관찰하였다.

2) d-Galactosamine 誘發 肝損傷에 대한 肝 保護효과

흰쥐 1群을 6마리로 하여 檢液 500mg/kg投與群과 1,000mg/kg投與群을 각각 1일 1회 5일간 經口投與하

고 최종투여 30분후에 d-galactosamine 250mg/kg을 腹腔內 투여하였다. d-Galactosamine 투여 후 24시간 동안 絶食시키고 ether로 가볍게 麻醉시킨 다음 心臟 채혈하여 상온에서 60분간 방치하고 3,000 rpm에서 15분간 遠心分離하여 血清을 分離하였으며, 한편 上法에 따라 肝을 摘出하여 肝의 습중량을 측정하여 비교관찰하였다. 血清中の transaminase(GOT & GPT) 活性度, lactic dehydrogenase(LDH) 活性度 및 alkaline phosphatase(ALP) 酵素活性도를 아래의 방법에 준하여 측정하였으며 對照群에는 生理食鹽水を 투여하였으며 양성비교약물로는 silymarin 200mg/kg을 經口投與하여 비교관찰하였다.

3) 血清中 酵素活性度 測定

(1) 血清中 Transaminase(GOT & GPT) 活性度 측정

GOT와 GPT 酵素活性도의 측정은 Reitman & Frankel法에 준하여 GOT, GPT 測定用 試藥(아산제약주식회사, 한국)을 사용하여 측정하였다. 즉, GOT 또는 GPT 기질을 1.0ml 씩 시험관에 넣고 37℃ 수욕상에서 5분간 加溫한 후 蒸溜수로 10배 희석된 血清 0.2ml 씩을 시험관에 가한 후 37℃ 수욕상에서 GOT의 경우 60분, GPT의 경우 30분간 반응시킨 다음 발색시약 2,4-dinitrophenyl hydrazine을 1.0ml 씩 加하고 실온에서 20분간 방치한 다음 0.4N-NaOH 시액 10ml를 넣어 反應을 중지시켰다. 반응중지 30분후에 505nm에서 蒸溜水を 맹검으로 하여 標準液, 檢液 및 對照群의 吸光度를 측정하여 標準液의 檢量曲線으로부터 酵素의 活性單位(Karmen unit)로 換算하여 측정하였다.

(2) 血清中 Alkaline phosphatase(ALP) 活性도의 측정

血清中 ALP活性도는 Kind-King法の 효소비색법에 준하여 ALP-S kit 試藥(아산제약주식회사, 한국)을 사용하여 측정하였다. 즉, 기질완충액 2.0ml를 시험관에 취하고 37℃에서 5분간 加溫하고 血清 0.05ml를 가한 다음 37℃에서 정확히 15분간 방치한 다음 정색시약 2.0ml를 加하고 잘 混合한 후 실온에서 10분 이상 방치한 다음 60분 이내에 blank를 대조로 500nm에서 吸光度를 측정하여 標準液의 吸光度로부터 ALP 酵素活性度(K-A unit)를 換算하여 측정하였다.

(3) 血清中 Lactic dehydrogenase(LDH) 活性度の 측정
血清中 LDH 活性度の 측정은 젓산기질법을 이용하여 LDH- LQ kit 試藥(아산제약주식회사, 한국)을 사용하여 측정하였다. 즉, 기질정색액 1.0ml를 시험관에 취하고 37℃에서 5분간 加溫하고 40배 稀釋한 血清 0.05ml를 가지고 잘 혼합한 후 37℃에서 정확히 10분간 방치한 다음 회석반응정지시액 3.0ml를 가하여 반응을 停止시켰다. 60분 이내에 570nm에서 blank를 대조로 하여 吸光度를 측정하고 標準液의 吸光度로부터 LDH 酵素活性度(Wro blewski unit)로 換算하여 측정하였다.

4) 肝 및 腦 Homogenate의 지질과산화 形成에 미치는 작용

採血이 종료된 흰쥐를 ether로 痲醉시키고 腹部를 절개하여 간 문맥에 polyethylene tube를 삽입하여 4℃ 0.9% NaCl 용액으로 간을 세척한 후 적출하여 Homogenization하였다. 간 Homogenate을 0.9% NaCl 용액으로 세척하고 다시 간(습중량)과 1.15% KCl 용액의 비가 1:9의 비율로 1.15% KCl 용액을 가하여 glass Homo genizer로 다시 Homogenization하였다. 지질과산화형성 억제효과는 T. Yokozawa 등의 방법을 이용하여 thiobarbituric acid(TBA) -reactive substance 法에 準하여 실시하였다. 즉 phosphate 완충액(50mM, pH 7.4) 0.8ml와 30mM H₂O₂ 0.3ml를 각각 시험관에 옮기고 肝 Homogenate 0.5ml를 가하여 혼합하였다. 뚜껑을 막고 37℃에서 20분간 incubation 시키고 반응정지액으로 TBA/thiochloric acid(TCA) /HCl(5% TBA, 15% TCA, 0.25N HCl) 4.0ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 冷水 中에서 10분간 氷냉시키고 10분간 3,000 rpm에서 10분간 遠心分離하여 상층액을 535nm에서 吸光度를 측정하여 脂質過酸化物 형성억제효과를 산출하였다.

5) 肝 Homogenate 中 酵素活性 측정

흰쥐에서 적출한 肝을 1.5% KCl로 washing한 후 0.05mM EDTA가 들어있는 0.05M phosphate buffer(pH7.4)로 Homogenization하여 간 Homogenate로 하였다.

(1) Glutathione S-transferase(GST) 活性 측정

Habig 등의 방법에 準하여 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 간 homogenate를 100 μ l 가하여 340nm에서 3분간 吸光度를 측정하였다.

(2) Superoxide dismutase(SOD) 活性 측정

Oyanagui의 法에 準하여 7.5mM xanthine 50 μ l와 10mM hydroxylamine hydrochloride 50 μ l에 500mM phosphate buffer (pH7.8) 500 μ l와 500 μ l liver homogenate를 넣고 37℃에서 10분간 preincubation 시킨 후 0.42unit/ml의 xanthine oxidase 0.2ml를 가하여 20분간 incubation 시켰다. Sulfanilamide용액 1ml와 naphthyl ethylenediamine 1ml를 가한 후 실온에서 20분간 방치한 후 540nm에서 吸光度를 측정하여 총 SOD값을 구하였다.

3. 통계처리

본 실험의 統計處理에 있어 有意性檢定은 Student's t-test를 사용하여 p<0.05 수준에서 有意性을 檢定하였으며 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었다.

III. 實驗結果

1. CCl₄ 誘發 肝損傷에 대한 肝 保護효과

1) 血清中 Transaminase(GOT & GPT) 活性도에 대한 효과

CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血清中 transaminase 活性도에 대한 檢液의 效果를 실험한 結果, 흰쥐에 CCl₄를 處置하면 血中의 GOT活性은 6860.0 ± 227.4 Karmen unit로 CCl₄ 非處置 正常群의 血清中 GOT活性은 291.0 ± 24.8 Karmen unit에 비하여 약 2257%가 증가된 p<0.001의 유의한 GOT活性의 증가를 보였다. 檢液 500mg/kg을 투여한 實驗群(이하 Sample I) 및 1,000mg/kg을 투여한 實驗群(이하 Sample II)에서는 각각 5884.3 ± 307.0 Karmen unit와 4109.7 ± 403.1 Karmen unit로 각각 p<0.05와 p<0.001

의 유의한 血清中 GOT 酵素活性의 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 1733.0±150.6 Karmen unit 로 p<0.001의 유의한 GOT 酵素活性도의 상승억제효과를 나타내었다(Table 1). 또한, 血清中 GPT活性은 CCl₄ 非處置 正常群의 231.3±23.1 Karmen unit에 비하여 CCl₄ 처치 對照群의 1395.0±85.9 Karmen unit 로 503.0%(p<0.001)의 유의한 GPT活性의 상승효과를 보였다. 檢液 Sample II 投與群에서는 1123.5±64.1 Karmen unit로 對照群에 비하여 p<0.05의 유의한 GPT 酵素活性 상승억제효과를 나타내었으며, 檢液 Sample II 投與群에서는 1292.3±86.7 Karmen unit 로 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg投與群에서는 947.7±53.8 Karmen unit로 對照群에 비하여 p<0.01의 有意한 GPT 상승억제효과를 나타내었다(Table 2).

2) 血清中 Lactic Dehydrogenase(LDH) 活性도에 대한 효과

CCl₄ 투여로 유발 肝損傷 흰쥐의 血清中 lactic dehydrogenase(LDH) 酵素活性도에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, CCl₄로 처치한 對照群의 血清中

LDH 酵素活性도는 23016.7±2206.0 Wroblewski unit 로 非處置群의 血清中 LDH 活性은 1851.5±312.5 Wroblewski unit에 비하여 1143.1%(p<0.001)의 유의한 LDH 活性의 증가를 보였다. 檢液 Sample I 및 Sample II 投與群에서는 각각 17362.0±1213.6 Wroblewski unit와 14747.8±1245.2 Wroblewski unit 로 對照群에 비하여 p<0.05와 p<0.01의 유의한 LDH 酵素活性도 상승억제효과가 인정되었다. 양성비교약물 silymarin 200mg /kg 投與群에서는 9665.5±418.9 Wroblewski unit로 p<0.001의 유의한 LDH 상승억제효과가 인정되었다(Table 3).

3) 血清中 Alkaline Phosphatase(ALP) 活性도에 대한 효과

CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血清中 alkaline phosphatase (ALP) 活性도에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, CCl₄로 處置한 對照群의 血清中 ALP 酵素活性도는 139.6±10.8 K-A unit로 非處置 正常群 44.8±1.9 K-A unit에 비하여 211.3%(p<0.001)의 유의한 ALP 活性도의 증가를 관찰할 수 있었다. 檢液 Sample I 및 Sample II 投與群에서는 각각 108.5±8.8 K-A unit와 99.9±4.3 K-A unit로 對照群에 비하여 각각 p<0.05와 p<0.01의 유의한 증가억제효과를 관찰할

Table 1. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum GOT Activities on CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	GOT activities(Karmen Units)	Inhibition(%)
Normal	-	6	291.0±24.8 ^a	-
Control	-	6	6860.0±227.4 ^{###}	-2257.4 ^b
Sample I	500	6	5884.3±307.0 [*]	14.2 ^c
Sample II	1,000	6	4109.7±403.1 ^{***}	40.1 ^c
Silymarin	200	6	1733.0±150.6 ^{***}	74.7 ^c

Table 1 ~ Table 12 까지 위첨자 내용은 다음과 같음.

a) ; Mean±Standard error

[#]; Statistically significant compared with normal data(^{###}:p<0.001)

^{*}; Statistically significant compared with control data(^{*}:p<0.05 and ^{***}:p<0.001)

b) Inhibition rate (Normal - Control) ÷ Normal × 100

c) Inhibition rate (Control - Sample) ÷ Control × 100

Table 2. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum GPT Activities on CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	GPT activities(Karmen Units)	Inhibition(%)
Normal	-	6	231.3±23.1 ^{ab}	-
Control	-	6	1395.0±85.9 ^{###}	-503.0 ^b
Sample I	500	6	1292.3±86.7	7.4 ^c
Sample II	1,000	6	1123.5±64.1 [*]	19.5 ^c
Silymarin	200	6	947.7±53.8 ^{**}	32.1 ^c

Table 3. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum Lactic Dehydrogenase (LDH) Activities on CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose(mg/kg, p.o.)	No. of animals	LDH activities(Wroblewski Units)	Inhibition(%)
Normal	-	6	1851.5±312.5 ^{a)}	-
Control	-	6	23016.7±2206.0 ^{###}	-1143.1 ^{b)}
Sample I	500	6	17362.0±1213.6 [*]	24.6 ^{c)}
Sample II	1,000	6	14747.8±1245.2 ^{**}	35.9 ^{c)}
Silymarin	200	6	9665.5±418.9 ^{***}	58.0 ^{c)}

Table 4. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum Alakine Phosphatase(ALP) Activities on CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	ALP activities (K-A Units)	Inhibition (%)
Normal	-	6	44.8±1.9 ^{a)}	-
Control	-	6	139.6±10.8 ^{###}	-211.3 ^{b)}
Sample I	500	6	108.5±8.8 [*]	22.3 ^{c)}
Sample II	1,000	6	99.9±4.3 ^{**}	28.4 ^{c)}
Silymarin	200	6	68.7±3.3 ^{***}	50.8 ^{c)}

Table 5. Protective effects of *Jucha-whan* on Lipid Peroxide Levels in Liver of the CCl₄- Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Lipid peroxide levels(absorbance)	Inhibition (%)
Normal	-	6	0.162±0.015 ^{a)}	-
Control	-	6	0.213±0.011 [#]	-31.6 ^{b)}
Sample I	500	6	0.199±0.011	6.7 ^{c)}
Sample II	1,000	6	0.178±0.014 [*]	15.6 ^{c)}
Silymarin	200	6	0.167±0.007 ^{**}	21.7 ^{c)}

수 있었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 68.7±3.3 K-A unit로 對照群에 비하여 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다(Table 4).

4) 흰쥐 肝 및 腦中 지질과산화에 대한 효과

흰쥐에 CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 肝 및 腦를 적출하여 脂質過酸化에 대한 영향을 검토한 결과, 肝의 脂質過酸化는 535nm에서 吸光度의 변화로 하였으며 CCl₄ 處置 對照群의 肝에서의 脂質過酸化는 0.213±0.011로 非處置 正常群 0.162±0.015에 비하여 p<0.05의 유의한 吸光度의 증가를 나타내어 脂質過酸化가 촉진됨을 알 수 있었다. 檢液 Sample II 投與群에서는 0.178±0.014로 對照群에 비하여 p<0.05의 유의한 脂質過酸化를 억제시킴을 알 수 있었으며, 檢液 Sample I 投與群에서는 0.199±0.011로 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 0.167±0.007로 p<0.01의 유의한 肝 脂質過酸化 억제활성을 나타내었다(Table

5). 또한, 腦의 脂質過酸化 형성은 CCl₄ 處置 對照群의 腦에서의 脂質過酸化는 0.173±0.008로 非處置 正常群 0.042±0.009에 비하여 p<0.001의 유의한 吸光度의 증가를 나타내어 脂質過酸化가 촉진됨을 알 수 있었다. 檢液 500mg/kg 및 1,000mg/kg 投與群에서는 각각 0.155±0.012와 0.147±0.011로 對照群에 비하여 다소 억제시키는 경향을 나타내나 통계적으로 유의성은 없었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 0.129±0.007로 p<0.01의 유의한 肝 脂質過酸化 억제활성을 나타내었다(Table 6).

5) glutathione S-transferase(GST) 活性度에 대한 효과
 흰쥐에 CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 肝 glutathione S-transferase(GST) 酵素活性에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, 肝의 GST 酵素活性도는 340nm에서 吸光度의 변화로 하였으며 CCl₄ 處置 對照群의 GST 酵素活性는 0.415±0.024로 非處置 正常群 0.260±0.036에 비하여 p<0.01의 유의한 증가를 관찰할 수 있었다. 檢液 Sample I 및 Sample II 投與

Table 6. Protective effects of *Jucha-whan* on Lipid Peroxide Levels in Brain of the CCl₄- Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Lipid peroxide levels(absorbance)	Inhibition (%)
Normal	-	6	0.042±0.009 ^{a)}	-
Control	-	6	0.173±0.008 ^{***}	-307.9 ^{b)}
Sample I	500	6	0.155±0.012	10.1 ^{c)}
Sample II	1,000	6	0.147±0.011	15.1 ^{c)}
Silymarin	200	6	0.129±0.007 ^{**}	25.4 ^{c)}

Table 7. Protective effects of *Jucha-whan* on Liver Glutathione S-Transferase (GST) Activities in CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GST activities (absorbance)	Inhibition (%)
Normal	-	6	0.260±0.036 ^{a)}	-
Control	-	6	0.415±0.024 ^{##}	-59.5 ^{b)}
Sample I	500	6	0.381±0.035	8.4 ^{c)}
Sample II	1,000	6	0.356±0.017	14.2 ^{c)}
Silymarin	200	6	0.328±0.017 ^{**}	321.0 ^{c)}

Table 8. Protective effects of *Jucha-whan* on Liver Superoxide dismutase(SOD) Activities in CCl₄-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	SOD activities (absorbance)	Inhibition (%)
Normal	-	6	0.440±0.057 ^{a)}	-
Control	-	6	0.258±0.031 ^f	-41.5 ^{b)}
Sample I	500	6	0.271±0.028	4.1 ^{c)}
Sample II	1,000	6	0.338±0.024 [*]	31.3 ^{c)}
Silymarin	200	6	0.378±0.017 ^{**}	46.6 ^{c)}

群에서는 각각 0.381±0.035와 0.356±0.017로 對照群에 비하여 현저하게 억제시킴을 보여주나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 0.328±0.017로 p<0.01의 유의한 GST 酵素活性의 증가를 억제시킴을 수 있었다(Table 7).

6) Superoxide dismutase(SOD) 活性도에 대한 효과
 흰쥐에 CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 肝 superoxide dismutase(SOD) 活性도에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, 肝의 SOD 酵素活性도는 540nm에서 吸光度의 변화로 하였으며 CCl₄ 처치 對照群의 SOD 酵素活性는 0.258±0.031로 非處置 正常群 0.440±0.057에 비하여 p<0.05의 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. 檢液 Sample II 投與群에서는 0.338±0.024로 對照群에 비하여 p<0.05의 유의한 감소억제효과를 나타내며, 檢液 Sample I 投與群에서는 0.271±0.028로 다소 억제시키는 경향을 나타내었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는

0.378±0.017로 p<0.01의 유의한 SOD 酵素活性의 감소억제효과를 나타내었다(Table 8).

2. d-Galactosamine 유발 肝損傷에 대한 肝 保護 효과

1) 血清中 Transaminase(GOT & GPT) 活性도에 對한 효과

d-Galactosamine 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血清中 transaminase 活性도에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, 흰쥐에 d-galactosamine을 처치하면 血清中の transaminase 活性이 현저히 증가되어 병태가 유발됨을 알 수 있었다. d-Galactosamine 처치 對照群의 血清中 GOT 活性는 653.5±31.7 Karmen unit로 非處置 正常群의 血清中 GOT 효소활성도 291.0±24.8 Karmen unit에 비하여 p<0.001의 유의한 GOT 酵素活性의 증가를 보였다. 檢液 Sample I 및 Sample II 投與群에서는 각각 599.8±30.3 Karmen unit와 580.8±19.4 Karmen unit로 對照群에 비하여

다소 억제시키는 경향을 보이나 유의성은 없었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200 mg/kg投與群에서의 GOT 酵素活性은 412.3±42.1 Karmen unit로 p<0.001의 유의한 GOT 상승억제효과를 보였다 (Table 9).

또한, 血清中 GPT 活性은 d-galactosamine 非處置 正常群의 231.3±23.6 Karmen unit에 比하여 d-galactosamine 處置 對照群의 574.0±51.3 Karmen unit로 p<0.001의 유의한 GPT 活性의 상승효과를 보였다. 檢液 500mg/kg 및 1,000mg/kg 投與群에서는 각각 478.0±42.0 Karmen unit와 468.0±23.9 Karmen unit로 對照群에 比하여 다소 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 보이지 않았다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 297.7±20.5 Karmen unit로 p<0.001의 유의한 GPT 상승억제효과를 보여 주었다(Table 10).

2) 血清中 Lactic Dehydrogenase(LDH) 活性度에 對한 효과

d-Galactosamine 유발 肝損傷 흰쥐의 血清中 LDH 活性度에 미치는 檢液의 효과를 실험한 결과, d-Galactosamine 處置 對照群의 血清中 LDH 酵素活性은 2955.0±258.9 Wroblewski unit로 d-galactosamine 非處置 正常群은 1851.5±312.5 Wroblewski unit에 比하여 p<0.05의 유의한 LDH 活性의 증가를 보였다. 檢液 Sample II 投與群에서 2387.2±97.9 Wroblewski unit로 對照群에 比하여 p<0.05의 유의한 억제효과를 나타내었으며, 檢液 Sample I 投與群에서도 2531.0±138.5 Wroblewski unit로 다소 억제시키는 경향을 보여 주었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 1626.3±130.5 Wroblewski unit로 p<0.001의 유의한 LDH 상승억제효과가 인정되었다(Table 11).

Table 9. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum GOT Activities on d-Galactosamine-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GOT activities (Karmen Units)	Inhibition (%)
Normal	-	6	291.0±24.8 ^{a)}	-
Control	-	6	653.5±31.7 ^{***}	-124.6 ^{b)}
Sample I	500	6	599.8±30.3	8.2 ^{c)}
Sample II	1,000	6	580.8±19.4	11.1 ^{c)}
Silymarin	200	6	412.3±42.1 ^{***}	36.9 ^{c)}

Table 10. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum GPT Activities on d-Galactosamine-Induced Experimental Liver Injured Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GPT activities (Karmen Units)	Inhibition (%)
Normal	-	6	231.3±23.6 ^{a)}	-
Control	-	6	574.0±51.3 ^{***}	-148.1 ^{b)}
Sample I	500	6	478.0±42.0	16.7 ^{c)}
Sample II	1,000	6	468.0±23.9	18.4 ^{c)}
Silymarin	200	6	297.7±20.5 ^{***}	48.1 ^{c)}

Table 11. Protective effects of *Jucha-whan* on Serum Lactic Dehydrogenase(LDH) Activities on d-Galactosamine-Induced Experimental Liver Injury in Rat

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	LDH activities (Wroblewski Units)	Inhibition (%)
Normal	-	6	1851.5±312.5 ^{a)}	-
Control	-	6	2955.0±258.9 ^{a)}	-59.6 ^{b)}
Sample I	500	6	2531.0±138.5	14.3 ^{c)}
Sample II	1,000	6	2387.2±97.9 ^{a)}	19.2 ^{c)}
Silymarin	200	6	1626.3±130.5 ^{***}	45.0 ^{c)}

IV. 考 察

舟車丸은 金 劉河間에 의해 製造된 처방으로 일체의 水濕을 치료함으로써 形氣가 具實한 사람의 腹水腫脹인 陽水의 腫脹 치료목적으로 역대 醫家들에 의해 활용되어왔다^{18,19}. 張景岳은 景岳全書에서 舟車丸에 대하여 “治一切水濕蠱脹 痰飲癰積 氣血壅滿 不得宣通 風熱鬱痺 走注疼痛 及婦人血逆氣滯等證”이라고 하여 그 主治를 밝힌 바 있다²⁰. 본 方劑의 構成을 살펴보면 黑丑를 爲君으로 하여 大黃, 甘遂, 大戟, 芫花, 靑皮, 陳皮, 木香, 輕粉으로 구성되어 있다. 본 方에서 黑丑, 大戟, 芫花, 甘遂는 모두 行水之劑로 能히 十二經의 水를 通行시킨다. 氣가 行하면 水도 行하고 脾가 運하면 腫도 消한다. 따라서 靑皮와 木香이 肝을 疎하고 肺를 泄하여 脾를 健하게 하고 陳皮와 함께 氣를 引導하고 濕을 燥하게 하는 것이다. 또한 輕粉은 竅에 不入하는 곳이 없어 能히 積痰을 除去하므로 이를 조금 加하는 것이다¹⁹. 따라서 舟車丸은 構成하는 藥材들의 효능으로 보아 行氣 逐水하는 작용이 있어 腹水腫脹이 나타나는 肝障害에 사용하여 회복시키는 處方으로 사료된다. 肝機能 개선을 나타내는 藥物에 대한 檢索法은 여러 연구자들에 의하여 보고되어 널리 이용되고 있으며, 대표적으로 CCl₄, 에탄올, d-galactosamine, ethionine, aflatoxin, α-naphthylisothiocyanate(ANIT), chloroform 등 약물을 사용하여 肝障害를 유발시켜 病態 모델을 작성하여 이용하고 있다^{23,24}. 그리고, 肝障害에 대한 保護효과를 지닌 藥物의 평가는 肝障害 유발前 또는 유발後에 약물을 투여한 後 血液을 채취하여 血清中 transaminase, latic dehydrogenase, alkaline phosphatase 등 血液生化學的 parameter를 측정하거나 또는 肝을 적출하여 Homogate 中の 過酸化脂質이나 superoxide dismutase 등과 같이 肝機能에 관여하는 酵素活性 및 肝組織 변화를 조직학적 검토 등을 통하여 평가하고 있다. 본 실험에서는 黑丑를 君藥으로 하는 舟車丸의 물추출물이 肝障害에 미치는 영향을 檢討하고자 CCl₄와 d-galactosamine으로 유발된 肝障害에 대한 肝 保護효과를 血清中 transaminase(GOT & GPT),

alkaline phosphatase(ALP) 및 latic dehydrogenase(LDH) 酵素活性度, 肝 및 腦組織 Homogate의 過酸化脂質 함량과 肝의 glutathione S-transferase(GST)와 superoxide dismutase(SOD) 酵素活性도를 지표로 실험하여 그 결과를 檢討한 바 다음과 같다. CCl₄에 의한 毒性機轉은 CCl₄가 肝의 활면소포체에 존재하는 藥物代謝酵素인 cytochrome P-450 system에 의하여 trichloromethyl radical(CCl₃)로 代謝되어 유발되기 시작하는데 trichloromethyl radical은 산소와 결합하여 trichloro methylperoxy radical(OOCCl₃)을 형성하거나 불포화지방으로부터 수소원자를 끌어내 lipid radical을 생성하여 脂質의 過酸化 등을 일으키며 단백질이나 脂肪과도 공유결합을 형성한다. 한편, 이러한 반응성이 높은 radical들은 cytochrome P-450 자체와도 결합하여 소포체내의 이들 酵素들을 파괴시켜 細胞損傷을 일으키는 것으로 알려져 있다. 肝障害의 改善효과와 지표로는 脂質過酸化형성, radical scavenger로 작용하는 superoxide dismutase의 활성, 肝細胞內의 cytochrome P-450의 量을 측정하거나 이 물질의 代謝와 排泄에 중요한 역할을 하는 glutathione-S-transferase의 활성을 비롯한 一般生理的 檢査, 生化學的 檢査, 肝機能檢査, 組織學的 檢査 등이 있으며, 특히 많이 이용되는 parameter로는 損傷된 肝으로부터 血液에 방출된 肝의 酵素活性度 측정이다. 따라서, 肝 毒性研究에 있어서 가장 유용한 방법 중 하나로서 血清中 transaminase(GOT & GPT)는 amino가 전이반응을 촉매하는 酵素의 총칭으로 臨床的으로 가장 많이 이용되고 있으며, 이 酵素活性度の 상승은 肝毒性으로 인한 肝細胞의 괴사와 肝組織의 파괴가 진행됨에 따라 transaminase가 血中으로 유리되어 높은 活性를 나타내어 肝毒性의 지표로 이용되고 있다. 한편, 脂質過酸化는 다가불포화지방산을 많이 함유한 인지질로 구성되어 있는 생체막에서 일어나기 쉬운 반응으로 free radical이 생체막을 공격하여 脂質 radical 연쇄반응에 의한 過酸化脂質을 축적하게 되는 것이다. 세포내 축적된 過酸化脂質은 생체의 생명 현상을 유지하는데 障害要因으로 작용하여 여러 질병의 발현과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있

다. 이러한 일련의 過酸化脂質의 생성을 억제시킴으로서 脂質過酸化를 매개로 하는 肝障害를 비롯한 각종 질병의 개선에 관여할 것으로 생각된다. 따라서, 生體內에 투여하면 대사과정에서 free radical을 생성하여 肝障害를 유발시키는 CCl₄ 處置 病態 모델에서의 舟車丸의 脂質過酸化 형성억제활성을 평가하고자 하였다. 즉, CCl₄ 處置로 유발된 肝障害 흰쥐의 肝 및 腦를 CCl₄ 처치 후 血液를 채취한 후 즉시 추출하여 Homogenization하고 이를 thiobarbituric acid(TBA)를 이용하는 방법을 사용하여 脂質過酸化 형성억제효과를 평가하였다. 또한 CCl₄에 의한 肝障害와 밀접한 관련이 있는 肝의 glutathione S-transferase(GST) 및 superoxide dismutase(SOD) 酵素活性에 대한 영향을 검토하였다. 肝에서의 glutathione은 蛋白質이나 DNA合成, amino acid의 이동 반응 및 thiol基의 저장 등과 같이 生物學的인 중요한 여러 가지 반응에 직접 관여한다. 그리하여 GST는 여러 가지 害毒反應에서 체내에서 일차적으로 산화된 대사물을 포함하는 과정에서 내인성 반응체인 glutathione을 이용하여 체내의 독성물질을 전이 분해시키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 생체 내에서는 hydroxyl radical(OH), superoxide radical 및 과산화수소가 발생할 수 있으며, 특히 어떤 유해물질이나 藥物 등에 폭로되었을 때나 病的 상태에서는 이들이 과다하게 生成되어 脂質過酸化반응, 蛋白質과과, 염색체 이상 및 적혈구 파괴 등 조직에 치명적인 손상을 입힐 수 있다. 한편 정상적인 組織은 내인성 제거제(endogenous scavengers)를 함유하고 있어 oxygen free radical 손상에 대해 방어적으로 작용한다. 또한, 어떤 有害物質이나 약물 등에 폭로되었을 때에는 oxygen free radical 제거제의 공급이 고갈된다고 하며 이러한 oxygen free radical은 sulfonhydroxyl oxidation을 통하여 蛋白質 손상을 일으킬 수 있다. 따라서, superoxide radical, hydroxyl radical 등과 같은 반응성이 비교적 큰 free radical 들을 과산화수소로 전환시키는 역할을 하는 酵素중의 하나가 superoxide dismutase(SOD)이다²⁶. 따라서, CCl₄ 처치로 체내에 증가된 free radical에 의해 SOD 活性의 감소를 유발하는 것으로 보고되어있

다. 한편, CCl₄와 다른 작용기전을 갖고 있는 d-galactosamine은 기능과 형태에서 있어서 바이러스성 肝炎과 유사한 肝毒性을 일으키는 것으로 보고되어 있다. galactosamine은 RNA와 蛋白質의 合成을 억제시키는 물질로 肝에서 galactose와 같은 경로를 거쳐 UDP-galactosamine으로 代謝되는데 이것은 glycoprotein을 형성할 수 없으므로 uridine만 소모하게 되어 결국 肝의 UTP, UDP-sugar들을 고갈시켜 肝障害를 유발시키는 것으로 알려져 있으며²⁷ 또한 세포막 성분 중 탄수화물의 조성과 細胞內 Ca²⁺ 농도를 변화시켜 肝組織의 손상이 유발된다고 알려져 있다. 특히, d-galactosamine은 肝細胞괴사 및 실질세포와 문맥 등의 염증을 유발하고 急性中毒시 glucose 항상성을 유지시키기 위하여 代謝障跡가 일어나 肝 괴사가 일어나게 되며 慢性中毒시 肝硬變과 세포성 종양이 일어나는 것으로 보고되어 있다. 舟車丸은 行氣逐水の 작용을 가지고 있어 肝障害를 회복시킬 것으로 사료되는 方劑로 肝損傷 치료효과를 기대할 수 있는데 착안하여 저자는 舟車丸 물추출물 500mg/kg을 투여한 sample I 과 1,000 mg/kg을 투여한 sample II 로 구분하여 血清中の transaminase(GOT & GPT), lactic dehydrogenase (LDH), alkaline phosphatase(ALP)와 같은 酵素活性度 및 肝과 腦 Homogenate의 脂質過酸化 그리고 GST, GOD와 같은 肝中の homogenate中 酵素活性의 측정을 통하여 아래와 같은 결과를 얻을 수 있었다. CCl₄ 투여로 유발된 肝損傷 흰쥐의 血清中 transaminase 活性度에 대한 檢液의 효과를 실험한 결과, 血清中 GOT 活性에 있어 對照群 6860.0±227.4 Karmen unit에 비하여 sample I 및 sample II 에서 각각 5884.3±307.0 Karmen unit와 4109.7±403.1 Karmen unit로 각각 14.2%의 유의성(p<0.05)과 40.1%의 유의성(p<0.001) 있는 血清中 GOT 酵素活性度の 상승억제효과가 인정되었다. 血清中 GPT 活性에 있어서도 對照群 1395.0±85.9 Karmen unit에 비하여 sample II 에서는 1123.5±64.1 Karmen unit로 19.5%의 유의성(p<0.05) 있는 酵素活性度 상승억제효과가 인정되었다. 그리고 latic dehydrogenase(LDH) 酵素活性에 있어 CCl₄ 處置 對

照群 23016.7 ± 2206.0 Wroblewski unit 비하여 sample I에서는 17362.0 ± 1213.6 Wroblewski unit로 24.6%의 유의성($p < 0.05$)있는 상승억제효과를 나타내었고, sample II에서는 14747.8 ± 1245.2 Wroblewski unit로 35.9%의 유의성($p < 0.01$)있는 상승억제효과가 인정되었다. 또한, 肝障害 지표로서 이용되고 있는 血清中 alkaline phosphatase (ALP) 酵素活性도에 대해서도 역시 對照群 139.6 ± 10.8 K-A unit에 비하여 sample I에서 108.5 ± 8.8 K-A unit로 22.3%의 유의성($p < 0.05$)있는 상승억제효과가 인정되었고, sample II에서는 99.9 ± 4.3 K-A unit로 28.4%의 유의성($p < 0.01$)있는 상승억제효과가 인정되었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 GOT, GPT, LDH 및 ALP 酵素活性도에 대하여 CCl_4 處置 對照群에 비하여 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 肝 Homogonate中的 脂質過酸化 형성억제효과는 CCl_4 를 處置한 對照群은 0.213 ± 0.011 로 非處置 正常群에 비하여 31.6%의 脂質過酸化 형성을 촉진시킴을 보여 주었고, sample II에서는 0.178 ± 0.014 로 對照群에 비하여 15.6%의 유의성($p < 0.05$)있는 脂質過酸化 형성억제효과가 인정되었으며, sample I에서는 다소 억제시키는 경향을 보여 주었다. 또한 腦 Homogonate에서도 CCl_4 處置 對照群은 0.173 ± 0.008 로 非處置 正常群에 비하여 약 307%의 유의한 脂質過酸化 형성촉진효과가 인정되었으며, sample I 및 sample II에서는 對照群에 비하여 각각 10.1%와 15.1%의 脂質過酸化 형성억제효과를 보이나 통계적으로 유의성은 없었다. 공격성 중간체의 해독화 작용에 관여하는 GST 酵素活性에 대하여 CCl_4 處置 對照群은 非處置 正常群에 비하여 약 59.5%의 유의한 증가를 보였으며, sample I과 sample II에서는 각각 對照群에 비하여 억제시키는 경향을 보이나 통계적으로 유의성은 없었으나, 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 321.0%의 유의한 증가억제효과가 인정되었다. 그리고 superoxide dismutase (SOD) 酵素活性도에 대해서는 CCl_4 處置 對照群은 0.258 ± 0.031 로 非處置 正常群 0.040 ± 0.057 에 비하여 약 42%의 유의한 감소를 나타내었으며, sample II

에서는 對照群에 비하여 0.338 ± 0.024 로 31.3%의 유의성($p < 0.05$)있는 감소억제효과가 인정되었고, sample I에서는 다소 억제시키는 경향만을 보여 주었다. 양성비교약물 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 對照群에 비하여 46.6%의 유의한 감소억제효과가 인정되었다. 흰쥐에 d-galactosamine를 복강내에 주사하여 유발된 肝障害에 대한 억제효과를 흰쥐의 血清中の transaminase(GOT & GPT), lactic dehydrogenase(LDH) 등의 酵素活性도를 지표로 하여 평가 분석한 결과, d-Galactosamine만을 투여한 對照群은 d-galactosamine를 處置하지 않은 正常群에 비하여 血清中 GOT가 653.5 ± 31.7 Karmen unit로 약 125%의 유의성($p < 0.001$)있는 증가를 보였으며, 肝障害에 기인하여 血清으로 이행되는 transaminase 酵素活性에 미치는 檢液의 효과는 sample I 및 sample II에서 각각 599.8 ± 30.3 Karmen unit와 580.8 ± 19.4 Karmen unit로 d-galactosamine 處置 對照群에 비하여 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 유의성은 인정되지 않았다. LDH 酵素活性도는 對照群 2955.0 ± 258.9 Wroblewski unit에 비하여 sample II에서는 2387.2 ± 97.9 Wroblewski unit로 19.2%의 유의성($p < 0.05$)있는 酵素活性 상승억제효과가 인정되었다. 양성비교약물로 사용한 silymarin 200mg/kg 投與群에서는 각 parameter에서 galactosamine 처치 對照群에 비하여 유의한 肝 保護효과를 나타냄이 인정되었다.

以上的 실험결과를 종합하면 舟車丸 물추출물은 CCl_4 처치로 유발된 肝障害 흰쥐에 대하여 血清中 肝障害 지표인 transaminase(GOT, GPT), lactic dehydrogenase(LDH) 및 alkaline phosphatase (ALP) 酵素活性도에 대하여 檢液의 농도 의존적인 억제활성이 인정되었다. 그리고, 肝 Homogonate에서의 脂質過酸化 형성억제활성이 인정되었고 肝中の superoxide dismutase(SOD) 活性的 감소억제효과도 역시 인정되었으며, glutathione S-transferase (GST) 酵素活性에 대해서는 다소 억제시키는 경향을 보여 주어 CCl_4 肝障害에 대한 舟車丸의 추출물의 保護효과가 관찰되었다. 반면에 또 다른 肝障害 病態 모델 작성 약물인

d-galactosamine 처치 유발 흰쥐 肝障害에 대한 舟車丸 물추출물 처치에 의하여 血清 parameter인 GOT, GPT 酵素活性도는 d-galactosamine 處置 對照群에 비하여 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 유의성은 없었고, LDH 酵素活性에 대해서는 유의한 억제효과가 인정되었으나 전반적으로 d-galactosamine 유발 肝障害에 대해서는 별다른 영향을 주지 못함을 알 수 있었다. 따라서, 앞으로 舟車丸의 肝障害 保護 효과에 관한 작용기전에 대하여 계속적인 검토가 요구된다.

V. 結 論

舟車丸의 효능을 실험적으로 규명하기 위하여 실험동물에 舟車丸 煎湯 濃縮液을 經口投與하여 酵素活性度 및 血清成分에 있어 肝 치료효과를 실험하였다. 酵素活性도에 있어 transaminase(GOT, GPT), ALP, LDH를, 肝 및 腦균질화물에 있어서 脂質過酸化 형성을 측정하였고, 또한 肝中の GST, SOD를 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 舟車丸은 CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 GOT 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 각각 $p < 0.05$, $p < 0.001$ 의 有意性 있는 GOT 活性抑制효과가 인정되었다.
2. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 GPT 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 에서는 다소 억제경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았고, sample II 에서 $p < 0.05$ 의 有意性 있는 GPT 活性抑制효과가 인정되었다.
3. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 LDH 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 각각 $p < 0.05$ 와 $p < 0.01$ 의 有意性 있는 活性抑制효과가 인정되었다.
4. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 ALP 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 각각 $p < 0.05$ 와 $p < 0.01$ 의 有意性 있는 ALP 活性抑制효과가 인정되었다.
5. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 肝 및 腦균질화

물중의 脂質過酸化 형성억제효과에 있어 對照群에 비하여 sample I 에서는 脂質過酸化 형성을 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았으며, sample II 에서는 $p < 0.05$ 의 有意性 있는 脂質過酸化 형성억제효과가 인정되었다.

6. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 GST 酵素活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 각각 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았다.
7. CCl₄로 유발된 肝損傷에 대하여 SOD 酵素活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 에서는 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았고, sample II 에서는 $p < 0.05$ 의 감소억제효과가 인정되었다.
8. d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 GOT 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 活性을 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았다.
9. d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 GPT 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 과 sample II 에서 活性을 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았다.
10. d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대하여 血清中 LDH 活性에 있어 對照群에 비하여 sample I 에서는 다소 억제시키는 경향을 보이거나 통계적으로 有意性은 인정되지 않았고, sample II 에서는 $p < 0.05$ 의 有意性 있는 活性抑制효과가 인정되었다.

以上の 실험결과를 종합하여 보면 舟車丸은 CCl₄ 및 d-galactosamine으로 유발된 肝損傷에 대해서 肝保護效果가 인정되었으며 앞으로 계속하여 藥物相互間的 작용 및 병리기전에 대한 실험적 연구가 필요 하리라 사료된다.

參考文獻

1. 金定濟. 診療要鑑上. 서울: 東洋醫學研究院; 1974, p.164
2. 高麗醫學編輯部. 소화기 질환. 서울: 고려의학; 1989, p.144-92
3. 金完熙, 崔達永. 臟腑辨證論治. 서울: 成輔社; 1985, p.139-44. p.146-8. p.150-3. p.154-65.
4. 金定濟, 金秉雲. 東醫肝系內科學. 서울: 東洋醫學研究院; 1983, p.27-9. p.39. p.42-3. p.85-96.
5. 金定濟, 金秉雲, 禹弘楨, 金德鎬, 崔楷灃. 東醫肝系內科學. 서울: 集文堂; 1983, p.27. p.29. p.54.
6. 金定濟. 東醫診療要鑑. 서울: 東洋醫學研究院; 1983, p.385-7. p.563-70. p.574-82.
7. 전국한의과대학 肝系內科學敎授. 肝系內科學. 서울: 東洋醫學研究院; 1995, p.24-9. p.230-1
8. 瑞光醫學書林編輯部. 肝臟病의 診斷學. 광주: 瑞光醫學書林; 1991, p.115-7. p.375-6. p.439-40. p.443-7.
9. 禹弘楨. 茵陳五苓散과 茵陳增量한 構成方이 흰쥐 肝損傷에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1992;13(1)
10. 朴永奎. 柴胡抑肝湯液이 白鼠 肝細胞에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1980;1
11. 羅相孝, 裴文弘. 救肝開鬱湯이 白鼠 肝臟의 四鹽化炭素 中毒에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1986;7(1)
12. 李在馥. 柴胡四物湯이 CCl₄로 유발된 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響. 尙志大學校大學院; 1996.
13. 金興鎬. 小柴胡湯加鹿茸이 CCl₄ 中瀆 Rat의 肝機能 回復에 미치는 影響. 尙志大學校大學院; 1994.
14. 宋虎林. 三豆解醒湯이 CCl₄ 및 d-Galactosamine에 依하여 유발된 실험적 흰쥐의 肝損傷에 미치는 影響. 尙志大學校大學院; 1998.
15. 金性洙, 柳基遠. 牽牛子가 肝 機能低下 成熟家兔의 血清 Lactate Dehydrogenase 및 蛋白質量에 미치는 研究. 大韓韓醫學會誌. 1978;15(1)
16. 全國韓醫科大學 肝系內科學敎授. 肝系內科學. 서울: 東洋醫學研究院; 1995, p.25-6.
17. 鄭仁基, 高炯均, 金昌煥. 針刺戟이 DMNA (Dimethylnitrosoamine)으로 유발된 흰쥐의 急性肝損傷에 미치는 影響. 대한한의학회지. 1991;12(1):39.
18. 尹吉榮. 東醫臨床方劑學. 서울: 明寶出版社; 1985, p.251.
19. 汪詡庵. 醫方集解. 台北: 文光圖書有限公司; 中華75年, p.239-40.
20. 田溶敏. 再編景岳全書處方全. 서울: 東源文化社; 2000, p.251.
21. 李尙仁. 本草學. 서울: 圖書出版修書院; p.295-7. p.313-8. p.325. p.348-9. p.401-2. p.562-3. p.567. p.378-9.
22. 全國韓醫科大學 本草學敎授. 本草學. 서울: 圖書出版永林社; p.242 -3. p.249-53. p.347-9. p.353. p.642. p.378-9.
23. 박은전, 김재백, 손동환, 고건일. 실험적 간경화 병태모델 비교. 약학회지. 1997;41(5):622.
24. 이준우, 정 훈, 한만덕, 백성진, 김용석, 강상모. G009가 CCl₄로 유발된 간손상 및 지질 과산화에 미치는 영향. 생약학회지. 1996;27(3):159.
25. 정기화, 정춘식, 노혜림. 승마추출물이 흰쥐의 사염화 탄소 유발 간독성에 미치는 효과. 응용약물학회지. 1996;4:89.
26. 신인철, 고현철. Biphenyldimethyl dicarboxylate (DDB)가 염화 제2수은-유발 간독성 흰쥐에서 지질과산화와 Oxygen Free Radical 제거효소 활성도에 미치는 영향. 응용약물학회지. 1995;3:3-8.
27. 최영주, 이미경, 손여원, 이홍숙, 김영중, 민홍기. 우황과 사향의 간세포 보호효과. 응용약물학회지. 1996; 4:271.