

高血糖 쥐의 肝 代謝酵素系에 미치는 生津養血湯의 影響

金 信錫, 崔 鐘元*, 李慶姬**, 金碩煥***, 李 哲浣***

ABSTRACT

Effect of SAENGCHINYANGHYOLTANG on the hepatic metabolic enzyme system in streptozotocin-induced diabetic rats

Shinseok Kim, Jongwon Choi*, Kyunghee Lee**, Seockhwan Kim***, Cheolwhan Lee
College of Oriental Medicine, Tae Jon University,*** Dept. of Food Science and Nutrition,
Dong-A University** College of Pharmacy, Kyung Sung University*

SANGNYANGHYOLTANG(SYT) is one of the most important prescription that has been used in oriental medicine for diabetes mellitus. The study was done in order to elucidate the anti-diabetic effect of SYT. After pretreatment of SYT(1,000mg/kg) for 6 weeks, the effect of SYT was prevented on serum liver function test and hepatic lipid peroxide content in rats i.v. injected with streptozotocin(STZ, 50mg/kg, tail vein) 5 weeks after pretreatment of SYT. The hepatic microsomal cytochrome P-450 and aniline hydroxylase were significantly decreased, and aminopyrine N-demethylase activity was significantly increased in SYT-STZ group as compared with control group. Changes in aldehyde oxidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, catalase, epoxide hydrolase, UDP-glucuronyltransferase and sulfotransferase activities were not significantly different in any of the group.

* 慶星大學校 藥學大學

** 東亞大學校 食品營養學科

*** 大田大學校 漢醫科大學

※ 본 논문은 1995년 9월 7일 대한한의학회에 제출된 논문임.

The cytosolic glutathione S-transferase activity was significantly decreased in SYT-STZ group as compared with control group. The selenium-independent glutathione peroxidase was significantly increased in SYT-STZ group as compared with control group, but there was no significant difference in selenium-dependent glutathione peroxidase in any of the groups. The hepatic glutathione concentration was significantly increased in SYT-STZ group as compared with control group, and γ -glutamylcystein synthetase and glutathione reductase activities were not significantly different in any of the groups. The hepatic lipid peroxide content, serum aminotransferase and sorbitol dehydrogenase activities were slightly decreased in significantly in SYT-STZ groups.

1. 緒論

糖尿病은 發顯되는 症狀이 消渴과 類似하기 때문에 漢醫學에서는 消渴의 範疇에서 解釋하고 있으며, 生津養血湯은 沈¹⁾의 “沈氏尊生書”에서 最初로 收錄된 以後 瀉心肺之火하고 補陰血生津하는 功效가 있어 歷代 醫家들²⁻⁸⁾에 의하여 消渴中 多飲, 口渴等을 特徵으로 하는 上消의 處方으로 活用되어 왔다. 本 處方은 當歸, 白芍藥, 生地黃, 川芎, 麥門冬, 黃連, 天花粉, 知母, 黃栢, 蓮肉, 烏梅, 薄荷 및 甘草로 構成되어 있으며 各各 藥物의 效能⁹⁻¹¹⁾에 대하여 살펴보면 當歸는 補血活血 潤燥 養新血하고, 川芎은 活血行氣 祛風止痛散瘀하고, 生地黃은 清熱養血하고, 白芍藥은 養血斂陰 緩急止痛하는데 以上은 陰血을 養하는 것이며 麥門冬은 生津 潤肺 瀉熱除煩하고, 黃連은 瀉心火 清熱하고, 天花粉은 降火潤燥 解渴하고, 知母는 壯水清金 潤腎滋陰 止渴除煩하고, 黃栢은 瀉腎火하고, 蓮肉은 益氣清心 補中養神하고, 烏梅는 斂肺 生津止渴하고, 薄荷는 宣滯解鬱 消散風熱하여, 甘草는 清熱解毒하여 무릇 上消의 熱結로 인한 消渴에

應用될 수 있다. 最近 消渴 處方을 利用한 實驗的 研究¹²⁻²⁰⁾는 많이 이루어지고 있으나 아직 뚜렷한 機轉은 밝혀 지고 있지 않는 實情이다.

最近에와서 生體內的 代謝 酵素系의 誘導 및 調節이 xenobiotic에 露出된 그 自體에 의해서 뿐만아니라 2次的으로 나타나는 病態 生理狀態에 의해서도 일어난다는 사실에 關心이 高調되고 있는데 Barnett等²¹⁾은 實驗室的으로 糖尿病을 誘發 시키는 物質로 알려진 streptozotocin (STZ)에 의하여 誘導된 糖尿性 쥐에서 cytochrome P-450이 增加 되는 것은 growth hormone의 分泌不全 및 hyperketnemia에 起因함을 報告한것을 비롯하여 많은 研究者들에 의하여 報告되는 各種 代謝酵素의 誘導作用이 血中 insulin, glucose에 의한 것임이 示唆되었고 Agius等²²⁾은 STZ에 의한 glutathione S-transferase (GST)의 活性 增加가 STZ 自體에 의한 增加 및 Grant等²³⁾ 및 Watkins等²⁴⁾은 STZ 自體에 의해서 GST의 活性이 減少되며, Carnovale等²⁵⁾은 insulin이 GST의 活性에 重要的 역할을 示唆한 바 있으나 이러한 STZ의 相反된 研究 結果는 使用된 動物의 species, strain 및 投與

期間에 의해서도 달라질수 있다는 가능성을提示하고 있다. 一般的으로 生體 自體의 損傷은 生體膜 構成 成分인 多加 不飽和 脂肪酸의 過酸化가 그 한가지 原因으로서 指摘되고 있는데^{26,27)} STZ가 脂質의 過酸化에 關與하는 生體內的인 要因 즉, free radical 生成系를 增加시킬 것으로 보이며 이때 生成된 free radical이 여러가지 毒作用을 誘發시킬 것으로 생각된다²⁸⁾. 그러나 生體는 free radical의 毒性을 除去시켜 주는 解毒系의 존재로 여러가지 毒作用에 의한 組織 損傷으로부터 保護 받고 있는데 free radical의 生成系와 解毒系 사이에 不均衡이 일어난다면 毒作用이 誘發된다^{29,30)}.

한편, 著者等^{31,32)}은 消渴 處方으로 利用되는 生津養血湯 煎湯液의 前處理로 STZ에 의해 誘發된 糖尿病시 나타나는 生理的 現狀이 減少됨을 觀察하고서 이러한 作用의 機轉은 脾臟 細胞中的 酵素 活性을 調節하며 나아가 脾臟 組織의 病變을 阻止하여 주므로서 나타나는 結果로 생각한다는 점과 糖尿病 誘發시 惹起되는 體內 脂質成分의 變動도 改善 할것이라는 報告를 한바 있다. 이에 本 研究에서는 生津養血湯의 또 다른 亢糖尿 機轉을 檢討할 目的으로 實驗 動物을 使用하여 生津養血湯 煎湯液을 前處理하고 streptozotocin을 投與하여 糖尿病시 나타나는 肝에서의 藥物 代謝酵素系인 phase I 및 phase II系에 關與하는 酵素變動을 檢討하였다.

II. 實驗

1. 動物

一定한 條件(溫度: $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 濕度: 40-60%, 明暗: 12時間 light/dark cycle)하에서 飼育한 體重 $200 \pm 10\text{g}$ 의 sprague-dawley系 雌性 흰쥐를 使用하였고, 實驗前 24時間 물만 먹이고 飼料는 제거하였다. 이때 實驗 條件을 정확히 하기 위하여 動物의 處置는 午前 9時에서 10時 사이로 하였다.

2. 藥劑

本 實驗에 使用한 藥劑는 市中에서 購入하여 嚴選한것을 使用하였으며, 處方은 “方藥合編”³³⁾ 收載된 生津養血湯으로 1貼의 處方內容과 分量은 다음과 같다.

Prescription of SAENGCHINYANGHYOLTANG

韓藥名	生藥名	重量(g)
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	3.750
白芍藥	<i>Paeoniae Radix</i>	3.750
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	3.750
麥門冬	<i>Liriopsis Tuber</i>	3.750
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	3.000
黃連	<i>Coptidis Rhizoma</i>	3.000
天花粉	<i>Trichosanthis Rhizoma</i>	2.625
知母(蜜炒)	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	1.875
黃栢(蜜炒)	<i>Phellodendri Cortex</i>	1.875
蓮肉	<i>Nelumbo Semen</i>	1.875
烏梅	<i>Mume Fructus Praeparatus</i>	1.875
薄荷	<i>Menthae Folium</i>	1.875
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	1.875
	Total amount	36.750

3. 方法

1) 檢液의 調製

上記 處方의 10貼 分量 367.5g을 細切하여 蒸溜水로 2回 3時間 加熱 抽出하여 吸引 濾過한 濾液을 rotary evaporator로 減壓 濃縮하여 粗

粘狀의 抽出物 108g을 얻어 本 實驗에 필요로 하는 濃度로 生理食鹽水에 稀釋하여 使用하였다.

2) 檢液의 投與

檢液의 投與는 實驗動物 10마리를 4群으로 나누어 生理食鹽水를 6週間 經口 投與하고 5주째에 0.01M citrate buffer(pH 4.5)를 꼬리 靜脈에 注射한 正常群(Normal group), 生津養血湯 煎湯液(SYT)을 6週間 經口 投與하고 5주째에 0.01M citrate buffer를 꼬리 靜脈에 注射한 STZ 處置 正常群(SYT-N group), 生理食鹽水를 6週間 經口 投與하고 5주째에 STZ를 0.01M citrate buffer에 溶解하여 꼬리 靜脈에 注射한 對照群(Control group) 및 生津養血湯 煎湯液을 6週間 經口 投與하고 5주째에 STZ를 꼬리 靜脈에 注射한 SYT 處置 實驗群(SYT+STZ group)으로 하였다.

3) Streptozotocin 糖尿 誘發

Streptozotocin(50mg/kg)을 氷冷上에서 0.01M citrate buffer에 溶解하여 꼬리 靜脈에 注射하였으며 注射後 1週日이 지나 꼬리 靜脈에서 血液을 취하여 glucometer를 利用하여 血糖의 濃度가 200mg/kg 以上인 것을 糖尿病 誘發로 看做 하였다.

4) 血清의 分離

動物을 CO₂ gas로 痲醉시킨後 腹部 正中線을 따라 改腹하고 腹部 大動脈으로 부터 血液을 採取하고 cold chamber내에서 30分간 放置하여 凝固시킨 다음 遠心分離機로 800xg에서

15分間 遠心分離하여 血清을 分離한 후 實驗에 使用하였다.

5) 酵素源의 調製

肝은 0.9% 生理食鹽水로 貫流시켜 組織내 血液을 除去하고 肝臟을 摘出하여 生理食鹽水로 씻은 다음 여지로 肝에 남아있는 血液 및 기타 異物질을 除去한後 肝組織 1g당 0.25M sucrose 溶液 4倍量을 가하여 氷冷下에서 glass tefron homogenizer로 磨碎하였다. 이 磨碎 均質液을 600xg에서 10分間 遠心分離하여 核 및 未磨碎 部分을 除去한 上澄液을 얻고 이것을 다시 10,000xg에서 20分間 遠心分離하여 mitochondria 分割을 얻어 catalase活性의 酵素源으로 使用하였으며, mitochondria 分割을 除去한 上澄液을 105,000xg에서 1時間 동안 超遠心分離하여 cytosol分割을 分離하여 이때 얻은 cytosolic fraction은 aldehyde oxidase, epoxide hydrolase, γ -glutamylcystein synthetase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, sulfotransferase, superoxide dismutase, xanthine oxidase 및 glutathione S-transferase 의 活性 測定의 酵素源으로 使用하였다. 한편, microsomal fraction은 0.25M sucrose 溶液 一定量에 再懸濁시켜 105,000xg에서 再 遠心分離하여 얻은 沈澱物을 0.25M sucrose溶液 4ml에 懸濁하여 이것을 cytochrome P-450, aniline hydroxylase, aminopyrine N-demethylase 및 UDP-glucuronyl transferase 活性 測定의 酵素源으로 使用하였다.

6) 血清中 酵素活性 測定

Aminotransferase(AST, ALT)의 活性 測定은 Reitman과 Frankel의 方法³⁴⁾에 準하여 調製된 kit(Eiken Co.)를 使用하였으며, sorbitol dehydrogenase(SDH)는 Bauer의 方法³⁵⁾에 準하여 0.25M TEA buffer(pH 7.4)와 蒸溜水를 加한후 12mM NADH와 血清을 添加하여 25°C에서 30分間 preincubation한후 4M fructose를 넣고 25°C에서 3分間 放置후 波長 340nm에서의 吸光度와 다시 25°C에서 3分間 放置후의 吸光度 差이를 測定한 다음 NADH가 3分 동안 fructose에 의해 NAD로 還元한 그 減少量을 ml당 nmole로서 表示하였다.

7) 肝組織中 酵素活性의 測定

Catalase의 活性은 Aebi³⁶⁾, aldehyde oxidase의 活性 測定은 Rajagopalan等³⁷⁾의 方法에 準하였으며, aniline hydroxylase와 aminopyrine N-demethylase의 活性은 각각 Imai 및 Sato의 方法³⁸⁾과 Nash等³⁹⁾, xanthine oxidase의 活性은 Strip等⁴⁰⁾, cytochrome P-450의 含量은 Omura等⁴¹⁾의 方法에 準하여 試驗管에 microsomal suspension(protein 1mg/ml) 5ml를 넣고 還元劑로 sodium dithionite만을 잘 混合한 다음 19K needle을 통해 1分間 4°C 以下에서 CO gas를 bubbling시켰다. Bubbling이 끝난 후 즉시 波長 400-500nm에서 microsomal suspension에 sodium dithionite만을 加한 reduced microsomal suspension과 CO bound microsomal suspension 肝의 difference spectrum을 얻어 450-490nm에서 吸光度의 差이를 cytochrome CO complex의 mole 吸光係數 $91\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 利用하여 cytochrome P-450

의 양으로 計算하였고 epoxide hydrolase의 活性은 Hasegawa 等⁴²⁾, r-glutamyl cysteine synthetase의 活性은 Meister 等⁴³⁾과 Fiske 等⁴⁴⁾, glutathione peroxidase의 活性은 Paglia 等⁴⁵⁾, glutathione reductase의 活性은 Mize 等⁴⁶⁾, glutathione S-transferase의 活性은 Habig 等⁴⁷⁾의 方法에 準하여 0.1M K.P. buffer(pH 6.5) 中에 0.04M reduced glutathione 0.075ml를 加한 후 酵素액을 0.1ml 넣고 blank에는 20% TCA 0.5ml를 加해 蛋白質을 除去하고 試料는 25°C에서 5分間 反應시킨 후 blank와 試料 각각에 基질로 0.12M 1-chloro-2,4-dinitrobenzene 0.025ml를 加하여 25°C에서 2分間 反應시킨 후 試料에 20% TCA를 加해 反應을 完結시킨 후 blank와 試料 각각을 遠心分離하여 얻은 上澄液을 波長 340nm에서 그 吸光度를 測定한 다음 1-chloro-2,4-dinitrobenzene의 mole 吸光係數 $9.6\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 를 利用하여 活性度를 算定하였으며 sulfotransferase의 活性은 Dawsen 等⁴⁸⁾, superoxide dismutase의 活性은 Marklund 等⁴⁹⁾, UDP-glucuronyl transferase의 活性은 Reinke 等⁵⁰⁾의 方法에 準하여 測定하였다.

8) 肝組織中の 含量測定

肝 組織中 glutathione 含量測定은 Ellman等⁵¹⁾의 方法에 準하였으며 過酸化脂質의 含量은 Ohkawa 等⁵²⁾의 方法에 準하여 肝組織 1g當 9倍量의 生理食鹽水를 加해 磨碎한 다음 이 磨碎液에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2ml, 20% acetate buffer(pH 3.5)와 發色の 目的으로 0.8% thiobarbituric acid를 加한 후 95°C에서 1時間 동안 反應시킨 후 室溫으로 冷却시켜 蒸

溜水 1.0ml와 n-BuOH : Pyridine(15 : 1) 5.0ml를 添加하여 잘 섞은 후 15分間 遠心分離하여 赤色の n-BuOH : Pyridine층의 취하여 波長 532nm에서 그 吸光度를 測定한 다음 標準曲線에 準해 그 含量을 算定하였다.

9) 蛋白質 定量 및 統計處理

蛋白質 含量은 Lowry等⁵⁴⁾의 方法에 準하여 bovine serum albumin을 標準品으로하여 測定하였으며, 本 實驗에서 얻어진 結果는 平均 ± 標準偏差로 標示하였고, 統計的 有意性은 Duncan's new multiple range test를 利用하였다.

III. 實驗 成績

1. 生津養血湯 煎湯液이 肝 microsomal cytochrome P-450의 活性에 미치는 影響

生津養血湯 煎湯液(1,000mg/kg)을 6週間 前處理하고 streptozotocin(STZ, 50mg /kg, tail vein, i.v.)을 投與하고서 肝 microsomal cytochrome P-450의 活性 變動에 미치는 影響을 觀察한 成績이 Table 1이다. 生理食鹽水和 citrate buffer를 投與한 正常群에서의 活性이 0.36±0.043nmoles/mg protein인데 비하여 STZ를 꼬리 靜脈에 投與하고 1주일후의 血糖을 測定하여 糖尿病이 誘發된 對照群이 0.78±0.094nmoles/mg protein로 현저히 增加되었으나 SYT+STZ群에서는 0.45±0.053nmole/mg protein로 有意性(P<0.001)있게 正常群 水準으로 減少하였다.

Table 1 . Effect of Liquid Extract of SYT on the Level of Hepatic Cytochrome P-450 in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Activity
	n moles/mg protein
Normal	0.36 ± 0.043 ^a
SYT-N	0.40 ± 0.014
Control	0.78 ± 0.094
SYT+STZ	0.45 ± 0.053 ^{***b}

1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats

2) * < 0.05(v.s Control)

** < 0.01(v.s Control)

*** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

2. Aminopyrine N-demethylase 및 aniline hydroxylase 活性에 미치는 影響

肝臟中 microsomal aminopyrine N-demethylase의 活性은 正常群이 5.89±0.18 HCHO nmole/mg protein/min이었으며 對照群에서는 3.30±0.03 HCHO nmole/mg protein/min으로 減少된 반면에 SYT-N群에서는 正常群에 비해 6.80±0.07 HCHO nmole/mg protein/min로 有意性(p<0.001)있는 增加를 보였고 SYT+STZ群에서는 5.34±0.23 HCHO nmole/mg protein/min으로 對照群에 비하여 有意性(p<0.001)있게 增加되었다. Aniline hydroxylase의 경우 正常群이 0.68±0.04 p-aminophenol nmole/mg protein/min인데 비해 對照群에서는 1.84±0.07 p-aminophenol nmole/mg protein/min으로 增加된 반면 SYT+STZ群에서는 0.85±0.03 p-aminophenol nmole/mg protein/min으로 有意性(p<0.001)있게 減少하였다(Table 2).

Table 2. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Microsomal Aminopyrine Demethylase and Aniline Hydroxylase in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Aminopyrine demethylase (HCHO n moles/mg protein/min)	Aniline hydroxylase (p-aminophenol n moles/mg protein/min)
Normal	5.87 ± 0.18 ^u	0.68 ± 0.04
SYT-N	6.80 ± 0.07 ^{***p}	0.72 ± 0.04
Control	3.30 ± 0.03	1.84 ± 0.07
SYT+STZ	5.34 ± 0.09 ^{***}	0.85 ± 0.03 ^{***}

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) + < 0.05(v.s Normal) * < 0.05(v.s Control)
 ++ < 0.01(v.s Normal) ** < 0.01(v.s Control)
 +++ < 0.001(v.s Normal) *** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

3. Aldehyde oxidase 및 xanthine oxidase 활성에 미치는 影響

Aldehyde oxidase나 xanthine oxidase의 활성 변화는 각 實驗群에서 正常群과 비교하여 별다른 影響이 없었다(Table 3).

Table 3. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Cytosolic Aldehyde Oxidase and Xanthine Oxidase in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Aldehyde oxidast	Xanthine oxidast
	(pyridone n moles/ mg protein/min)	(uric and n moles/ mg protein/min)
Normal	1.72 ± 0.17 ^u	2.04 ± 0.61
SYT-N	1.86 ± 0.19	1.93 ± 0.13
Control	1.92 ± 0.06	2.14 ± 0.33
SYT-STZ	1.67 ± 0.14	2.11 ± 0.08

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

4. Sulfotransferase 및 UDP-glucuronyltransferase 활성에 미치는 影響

肝 cytosolic sulfotransferase의 활성은 각 實驗群에서 본 酵素의 활성에는 별다른 影響이 없었으며, mitochondrial UDP-glucuronyltransferase의 활성은 SYT-N群에서는 14.84 ± 0.13 p-

aminophenol glucuronide nmole/mg protein/min으로 正常群에 비하여 有意性(p<0.001)있는 增加를 보였고 對照群에서 15.84 ± 0.49 p-aminophenol glucuronide nmole/mg protein/min으로 正常群에 비하여 增加하였으나 SYT+STZ群에서는 有意性이 觀察되지 않았다 (Table 4).

Table 4. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Cytosolic Sulfotransferase and UDP-Glucuronyl transferase in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Sulfotransferase	UDP-glucuronyltransferase
	p-nitrophenol sulfate n moles/mg protein/min	p-aminophenol glucuronide n molel/mg protein/min
Normal	1.28 ± 0.08 ^u	13.28 ± 0.31
SYT-N	1.30 ± 0.04	14.84 ± 0.13 ^{***p}
Control	1.36 ± 0.05	15.34 ± 0.49
SYT-STZ	1.42 ± 0.04	16.20 ± 0.36

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) + < 0.05(v.s Normal)
 ++ < 0.01(v.s Normal)
 +++ < 0.001(v.s Normal)

Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

5. Superoxide dismutase 및 catalase 활성에 미치는 影響

肝 cytosolic superoxide dismutase의 활성은 正常群에서 12.47 ± 0.46unit/mg protein 對照群에서 13.57 ± 0.86 unit/mg protein으로 유의한 변화는 觀察되지 않았으며 SYT+STZ群에서는 14.52 ± 0.91 unit/mg protein으로 對照群과 별다른 影響이 없었다. Mitochondrial catalase의 활성도 cytosolic superoxide dismutase와 정도의 차이는 있으나 酵素의 변화를 볼수없었다 (Table 5).

Table 5. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Cytosolic Superoxide Dismutase and Mitochondrial Catalase in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Superoxide dismutase	Catalase
	Unit ^a /mg protein	decreased H ₂ O ₂ μ moles/mg protein/min
Normal	12.47 ± 0.46 ^b	3.41 ± 0.24
SYT-N	11.31 ± 0.67	3.80 ± 0.22
Control	13.57 ± 0.86	3.24 ± 0.06
SYT-STZ	14.32 ± 0.91	3.10 ± 0.09

^a Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

^b Unit : One unit of superoxide dismutase activity was defined as that which inhibited the oxidation of pyrogallol of 50%.

6. Epoxide hydrolase의 활성에 미치는 영향

Epoxide hydrolase의 활성은 정상群에서 8.53 ± 0.20 TSO nmole/mg protein/min인데 비하여 對照群에서는 8.83 ± 0.15 TSO nmole/mg protein/min으로 증가하였고 SYT-N群은 정상群에 비해 7.98 ± 0.18 TSO nmole/mg protein/min으로 有意性(p<0.05)있는 減少를 보였고 SYT+STZ群은 對照群과 비교할때 減少하는 경향은 있으나 有意性은 認定 되지 않았다(Table 6)

Table 6. Effect of Liquid Extract of SYT on the Hepatic Epoxide Hydrolase Activity in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Activity
	trans-stilben oxide n moles/mg protein/min
Normal	8.53 ± 0.20 ¹
SYT-N	7.98 ± 0.18 ²⁾
Control	8.83 ± 0.15
SYT-STZ	8.32 ± 0.25

1) Each values represent Mean ± S.D.11 for groups of six rats

2) + < 0.05(v.s Normal)

++ < 0.01(v.s Normal)

+++ < 0.001(v.s Normal)

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

7. Glutathione peroxidase 활성에 미치는 영향

Hydrogen peroxide를 기질로 이용하는 selenium-dependent glutathione peroxide의 활성은 각 實驗群에서 統計的인 有意性이 없었다. 한편 cumen hydroperoxide를 기질로 이용하는 selenium-independent glutathione peroxide의 활성은 정상群이 119.9 ± 1.47oxidized NADPH nmole/mg protein/min인데 비해 對照群에서는 149.8 ± 1.34oxidized NADPH nmole/mg protein/min로 增加되었으며 SYT-N群은 정상群에 비해 124.6 ± 1.70oxidized NADPH nmole/mg protein/min으로 有意性(p<0.05)있는 增加를 보였고 SYT+STZ群은 130.8 ± 2.30oxidized NADPH nmole/mg protein/min으로 對照群에 비해 有意性(p<0.001)있는 減少 현상이 觀察되었다 (Table 7).

Table 7. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Cytosolic Selenium-Dependent and-independent Glutathione Peroxidase in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Glutathione peroxidase ^a	
	selenium-dependent	selenium-independent
Normal	296.3 ± 2.89 ^b	119.9 ± 1.47
SYT-N	288.6 ± 1.69	124.6 ± 1.70 ²⁾
Control	306.4 ± 5.96	149.8 ± 1.34
SYT-STZ	299.7 ± 5.02	130.8 ± 2.30 ³⁾

1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats

2) + < 0.05(v.s Normal) * < 0.05(v.s Control)

++ < 0.01(v.s Normal) ** < 0.01(v.s Control)

+++ < 0.001(v.s Normal) *** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

^a : oxidized NADPH n moles/mg protein/min

8. Glutathione S-transferase 活性에 미치는 影響

肝 cytosolic glutathione S-transferase의 活性은 正常群이 137.9±4.18 nmole/mg protein/min인데 비해 對照群은 280.5±10.50 nmole/mg protein/min로 酵素의 活性이 현저히 增加되었으며 SYT-N群에서는 153.2±6.41 nmole/mg protein/min로서 正常群에 비하여 有意性(p<0.05)있는 增加를 보였고 SYT+STZ群에서는 187.9 ±9.67 nmole/mg protein/min으로 對照群에 비해 有意性(p<0.001)있게 減少되었다(Table 8).

Table 8. Effect of Liquid Extract of SYT on the Hepatic Cytosolic Glutathione S-transferase Activity in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Activity
	n moles/mg cytosolic protein/min
Normal	137.9 ± 4.18 ¹⁾
SYT-N	153.2 ± 6.41 ²⁾
Control	280.5 ± 10.50
SYT+STZ	187.9 ± 9.67 ³⁾

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) * < 0.05(v.s Normal) * < 0.05(v.s Control)
 ** < 0.01(v.s Normal) ** < 0.01(v.s Control)
 *** < 0.001(v.s Normal) *** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group
 # : conjugated 1,2-dichloro 4-nitrobenzene

9. 肝臟中 glutathione 含量에 미치는 影響

肝 組織中 glutathione의 含量은 正常群이 6.0±0.34 μmole/g of tissue인데 비해 對照群은 4.2±0.05 μmole/g of tissue으로 減少 하였으며 SYT+STZ群에서는 5.3 ±0.22 μmole/g of tissue으로 對照群에 비하여 有意性(p<0.001)있는 增加를 보였다(Table 9).

Table 9. Effect of Liquid Extract of SYT on the Hepatic Glutathione Level in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Content
	glutathione μ moles/g of tissue
Normal	6.0 ± 0.34 ¹⁾
SYT-N	6.3 ± 0.38
Control	4.2 ± 0.05
SYT+STZ	5.3 ± 0.22 ²⁾³⁾⁴⁾

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) * < 0.05(v.s Normal)
 ** < 0.01(v.s Normal)
 *** < 0.001(v.s Normal)
 Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

10. γ-Glutamylcystein synthetase 및 glutathione reductase에 미치는 影響

正常群의 γ-glutamylcystein synthetase의 活性이 15.14±0.51 pi nmole/mg protein/min인데 비해 對照群에서는 17.23±0.86 pi nmole/mg protein으로 다소 增加하는 傾向을 보였으나 統計的인 有意性은 없었으며 SYT+STZ群에서도 正常群 結果 類似하였다. 한편 glutathione reductase의 活性도 각 實驗群에서 有意性 있는 結果는 觀察 할수 없었다(Table 10).

Table 10. Effect of Liquid Extract of SYT on the Activities of Hepatic Cytosolic γ-Glutamylcystein Synthetase and Glutathione Reductase in STZ Induced Hyperglycemic Rats

Group	γ-Glutamylcystein synthetase	Glutathione reductase
	(pi n moles/mg protein/min)	(glutathione in moles/mg protein/min)
Normal	15.14 ± 0.51 ¹⁾	25.86 ± 1.31
SYT-N	14.51 ± 0.62	26.27 ± 1.26
Control	17.23 ± 0.86	27.78 ± 1.03
SYT+STZ	16.72 ± 1.31	28.52 ± 1.13

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 Normal : Saline-treated group
 SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group
 Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group
 SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

11. 肝組織中 過酸化脂質 含量에 미치는 影響

肝臟中 脂質過酸化의 含量은 正常群이 18.2 ± 0.24 nmole/g of tissue인데 비하여 對照群에서는 24.7 ± 0.33 nmole/g of tissue로 增加 되었으며 SYT-N群에서는 20.3 ± 0.35 nmole/g of tissue로 正常群에 비해 有意性(p<0.001)있는 增加를 보였고 SYT+STZ群에서는 25.6 ± 0.23 nmole/g of tissue로 對照群에 비해 有意性(p<0.05)있는 增加를 보였다(Table 11).

Table 11. Effect of Liquid Extract of SYT on the Hepatic Lipid Peroxide Content in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Content
	malondialdehyde n moles/g of tissue
Normal	18.2 ± 0.24 ¹⁾
SYT-N	20.3 ± 0.35 ^{***2)}
Control	24.7 ± 0.33
SYT+STZ	25.6 ± 0.23 [*]

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) + < 0.05(v.s Normal) * < 0.05(v.s Control)
 ++ < 0.01(v.s Normal) ** < 0.01(v.s Control)
 +++ < 0.001(v.s Normal) *** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

Karmen unit/ml에 비해 增加 되었으며 SYT+STZ群에서는 31.89 ± 1.23 Karmen unit/ml으로 減少는 하였으나 有意性은 觀察되지 않았고 SYT-N群에서는 28.23 ± 1.49 Karmen unit/ml 으로 正常群에 비하여 有意性(p<0.05)있는 增加를 보였다. SDH 活性의 경우에는 對照群에서 正常群의 14.26 ± 1.96 mU/ml보다 22.35 ± 1.47 mU/ml로 增加한 반면 SYT+STZ群에서는 17.20 ± 0.78 mU/ml으로 有意性(p<0.01)있는 減少를 보였다(Table 12).

Table 12. Effect of Liquid Extract of SYT on Serum Aminotransferase(AST, ALT) and Sorbitol Dehydrogenase(SDH) Activities in STZ-Induced Hyperglycemic Rats

Group	Aminotransferase [*]		SDH (mU/ml)
	AST	ALT	
Normal	68.65 ± 2.02 ¹⁾	23.78 ± 1.07	14.26 ± 1.96
SYT-N	65.34 ± 1.82	28.23 ± 1.49 ²⁾	13.62 ± 1.31
Control	85.02 ± 1.53	32.46 ± 1.15	22.34 ± 1.47
SYT+STZ	79.56 ± 2.29 [*]	31.39 ± 1.23	17.20 ± 0.78 ^{**}

- 1) Each values represent Mean ± S.D. for groups of six rats
 2) + < 0.05(v.s Normal) * < 0.05(v.s Control)
 ++ < 0.01(v.s Normal) ** < 0.01(v.s Control)
 +++ < 0.001(v.s Normal) *** < 0.001(v.s Control)

Normal : Saline-treated group

SYT-N : SYT-treated and citrate buffer injected group

Control : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected group

SYT+STZ : Streptozotocin(50mg/kg) i.v. injected and SYT-treated group

: Karmen Unit/ml serum

12. 血清中 aminotransferase 및 SDH 活性에 미치는 影響

對照群에서 s-AST의 活性은 85.02 ± 1.53 Karmen unit/ml으로 正常群의 68.65 ± 2.02 Karmen unit/ml에 비하여 增加한 반면 SYT+STZ群에서는 79.56 ± 2.29 Karmen unit/ml으로 有意性(p<0.05)있는 減少를 보였고 s-ALT의 活性은 對照群에서 32.46 ± 1.15 Karmen unit/ml으로 正常群의 23.78 ± 1.07

IV. 考 察

糖尿病 즉 消渴의 治療濟로 널리 使用되고 있는 生津養血湯으로 부터 水層을 抽出하여 煎湯液을 얻고 이 煎湯液을 對象으로 糖尿病 誘發시 惹起되는 肝의 代謝酵素系에 어떠한 影響을 주는가를 觀察하였다.

內,外因性 要因에 의한 親電子性 物質을 包含하는 free radical은 生體內에서 組織損傷, 發癌

및 炎症等을 招來하며 近年에 와서는 老化過程과 이에 따른 여러가지 難治性 成人病의 原因이 되는 것으로 推定되어 지고 있으며, 生體內 活性 酸素는 體內 害毒機構의 作用으로 無毒化되는 것으로 알려져 있다⁵⁵⁻⁵⁷⁾. 本 研究에서는 糖尿病 誘發物質로 사용되는 streptozotocin (STZ)는 生體內에서 주로 肝에서 代謝되어 無毒化 되는데 STZ가 肝 microsomal enzyme을 誘導하여 活性 酸素等을 生成한 다는 報告^{58,59)}를 根據로 하여 生津養血湯 煎湯液(1,000 mg/kg, p.o.)을 6週間 前處理하고 마지막 1주에 STZ(50mg/kg, tail vein i.v.)로 誘導된 糖尿性 흰쥐에서 의 肝 藥物代謝 酵素系에 어떠한 影響을 미치는 가를 推論하였다.

一般的으로 肝에서 일어나는 解毒 作用은 肝細胞의 smooth endoplasmic reticulum에 존재하는 藥物 代謝 酵素系에 의하여 解毒 또는 不活性化되어 體外로 排泄되는 oxidative 및 nonsynthetic 段階인 phase I과 抱合 및 synthetic 段階인 phase II로 나눌수 있으며, 그 중 phase I 反應에 關與하는 cytochrome P-450은 藥物이 結合하는 形態 및 존재 組織에 따라 다른 spectrum을 나타내는 type I과 type II로 나누어진다⁶⁰⁾.

生津養血湯 煎湯液을 前處理 하고 STZ를 投與 하였을때 肝 microsomal cytochrome P-450의 活性이 STZ 單獨 投與群 보다 현저히 抑制되었다. 한편 type I계의 藥물을 代謝시키는 酵素로서 aminopyrine HCl을 기질로 하여 formaldehyde를 生成하는 aminopyrine N-demethylase의 活性이 STZ 投與로 正常群의 약 55% 정도로 減少되었으나 生津養血湯

煎湯液의 前處理로 STZ에 의해 減少되던 酵素 活性이 正常群 水準으로 回復되었다. 반면 type II系の 藥물을 代謝시키는 酵素인 aniline HCl을 기질로 하여 p-aminophenol을 生成하는 aniline hydroxylase의 活性에서는 aminopyrine N-demethylase 活性과는 반대로 STZ의 投與로서 약 152% 정도 현저히 增加되 었으나 生津養血湯 煎湯液을 前處理함으로써 STZ에 의해 현저히 增加되던 aniline hydroxylase의 活性이 正常 水準으로 調節되고 있음을 觀察할수 있었다.

이러한 結果는 STZ에 誘導된 糖尿性 쥐에서 두 酵素의 活性이 서로 相反되게 나타나는 結果는 다른 學者^{61,62)}들에 의하여서도 報告되고 있으며, 이는 糖尿性 쥐의 肝 microsomal cytochrome P-450의 isozyme의 變動에 의하여 기질의 特異성과 關聯되어 親和性の 차이에 의한것 이라고 하였는데 이러한 報告와 本 研究를 關聯시켜볼 때 生津養血湯 煎湯液을 前處理 하고 STZ를 投與 하므로써 두 酵素의 變動이 cytochrome P-450과 關聯된 isozyme의 變動에 의해 나타날 것으로 생각된다. 또 다른 phase I 反應에 關與하는 xanthine oxidase 및 aldehyde oxidase의 活性에는 生津養血湯 煎湯液의 前處理 與否에 따른 STZ 投與에서도 별 다른 影響을 받지 않았다.

또한 phase II 反應은 內, 外因性으로 投與되어진 毒性 物質에 glucuronic acid나 sulfate를 抱合 시키므로써 毒性을 減少시킬 뿐만 아니라 脂溶性 物質을 水溶性 物質로 轉換시켜 體外 排出을 促進 시키는 것으로 알려져있다⁶³⁻⁶⁵⁾. 이 反應의 媒介 酵素인 cytosolic sufo-transferase

및 microsomal UDP-glucuronyltransferase의 활성에 미치는 STZ의 영향을 관찰하여 본 결과 효소의 활성 변동을 관찰할 수 없었으며, superoxide dismutase, catalase 및 epoxide성 물질을 분해하는 epoxide hydrolase의 활성에도 별 다른 영향을 관찰할 수 없었다. 이와 다른 효소계에 관련된 glutathione S-transferase 및 glutathione peroxidase의 효소 변동을 관찰하였을 때 STZ를 처리하여 당뇨병을 유발시킴으로서 생체내 과산화물의解毒에 관련된 selenium-independent glutathione peroxidase의 활성이 glutathione S-transferase의 활성과類似하게 증가되었는데, selenium-independent glutathione peroxidase의 활성이 증가되는 것은 glutathione S-transferase의 활성 증가에 따른 것으로 본 실험에서는生津養血湯煎湯液의前處理로 STZ에 의해 유도된 glutathione S-transferase의 활성이 阻止되는데 이는血中 insulin이 glutathione S-transferase의 활성을調節하는데 關與할 것이라는結果²⁶⁾를 뒷바침하여 주는 것으로 생각된다. Glutathione S-transferase의 활성에는必然的으로 endogeneos reactant인 glutathione을 要求하게 되는데 이物質의細胞內 含量 維持에는 合成系 효소와酸化型 glutathione의 再還元 효소가 關與하고 있다^{66,67)}. STZ 投與시 肝臟中 glutathione의 含量 變化에서는 STZ 單獨 投與群은 顯著하게 減少하는 반면生津養血湯煎湯液을前處理 함으로 正常群 水準까지 回復되었다. 그러나 glutathione 合成系에 關與하는 cytosolic γ -glutamylcystein synthetase 및 glutathione 再還元 효소인 glutathione reductase의 활성을

測定하였던바 이들 효소의 활성에는 STZ 및生津養血湯煎湯液의 投與로 影響을 받지 않았다.

이로보아 肝組織內 glutathione이 STZ 投與에 의하여 減少되는 것은 glutathione의 合成系와 再還元 효소계에 影響을 미치는 것으로 보다는 glutathione S-transferase의 活性 增加로 glutathione의 含量이 抑制되는 것으로生津養血湯煎湯液은 이過程을調節하는 것으로 생각되며 이러한結果로 볼때,生津養血湯煎湯液이 糖尿病 誘發로 惹起되는 活性 酸素의 生成過程과 解毒過程을調節하므로서 老化等에 의한體內 代謝性 疾患의 豫防에 使用될 수 있는 可能性을 提示한 것으로 본다. 또한 STZ 投與에 의하여 肝組織中 脂質過酸化 含量, 血清 AST, ALT 및 SDH의 活性等이 다소 增加되는 점에서 肝組織 所見上 central vein에 약간 의 lymphoid accumulation이 觀察 되었지만 다른 肝組織은 잘 保存 되고있다는 점 등의 報告⁶⁸⁾와 聯關 시켜볼 때生津養血湯煎湯液의前處理는 肝組織에는 影響을 주지 않고 단지 STZ에 의해 誘發된 糖尿 現狀을 阻止 하여서 나타나는 結果로 생각된다.

以上の實驗 結果를 綜合하여 볼때生津養血湯煎湯液의前處理는 STZ에 의해 誘發되는 肝臟中의 효소 變動을調節하여 生體內 不均衡을 改善하여 주는 것으로 思料되어진다.

V. 結 論

生津養血湯의 抗 糖尿作用을 究明하기 위한 一環으로生津養血湯으로 부터煎湯液을 抽出

하고 이를 前處理한후 streptozotocin(STZ)으로 糖尿病이 誘發된 흰쥐의 肝 酵素代謝系에 어떠한 影響을 주는가를 觀察하여 아래와 같은 結論을 얻었다.

肝 microsomal cytochrome P-450 및 aniline hydroxylase의 活性은 生津養血湯 煎湯液의 前處理群에서 對照群에 비해 抑制되었고, aminopyrine N-demethylase의 活性은 對照群에 비해 增加되어 각각 正常群 水準으로 改善되었다. Free radical 生成系 酵素인 aldehyde oxidase, xanthine oxidase 및 解毒系 酵素인 superoxide dismutase, catalase, epoxide hydrolase等과 포함系 酵素인 sulfotransferase, UDP-glucuronyltransferase等の 活性은 實驗群 모두에서 뚜렷한 變化가 없었다. Glutathione S-transferase의 活性은 對照群에 비해 生津養血湯 煎湯液의 前處理로 正常 水準으로 抑制되었다. Glutathione peroxidase中 selenium-dependent의 活性은 實驗群 모두에서 뚜렷한 變化가 없었으나, selenium independent의 活性에서는 生津養血湯 煎湯液 前處理群에서 對照群에 비해 顯著히 抑制 되었다. 肝 組織中 glutathione의 含量은 對照群에 비해 生津養血湯 煎湯液의 前處理群에서 有意性 있게 增加되었으며, γ -glutamylcystein synthetase 및 glutathione reductase의 活性은 實驗群 모두에서 뚜렷한 變化가 없었다. 肝臟中 過酸化脂質의 含量과 血中 aminotransferase, sorbitol dehydrogenase의 活性은 生津養血湯 煎湯液의 前處理 群에서 對照群에 비해 다소 增加는 되나 有意性 없었다.

參考文獻

1. 沈金鰲 : 沈氏尊生書, 臺北. 自由出版社, p. 404. 1980
2. 吳克潛 : 古今醫方集成, 上海, 上海大衆書局, p. 560, 1936.
3. 許 浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p. 506, 1966.
4. 趙 佶 : 聖濟總錄, 北京, 人民衛生出版社, 上冊, p. 1064, 1987.
5. 李正來 : 大韓醫學全集, 서울, 第一文化社, p. 1409, 1989.
6. 江克潛·包明蕙 編著 : 簡明方濟辭典, 上海, 上海科學技術出版社, p. 308, 1989.
7. 李基淳 : 漢方內科學, 서울, 高文社, p. 405, 1969.
8. 上海中醫學院 : 中醫內科學, 港香, 商務印書館, p. 503, 1977.
9. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, P. 59, 102, 104, 107, 110, 121, 158, 206, 408, 482-483, 502, 508, 1975.
10. 長隱庵, 葉天士, 陳修園 : 本草三家合柱, 서울, 成輔社, p. 16-17, 25-26, 30-31, 72-73, 101-105, 118-119, 133-134, 1981.
11. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, 上冊, p.691-693, 725-726, 771-772, 780-781, 833-834, 849-850, 917-918, 1020, 1033-1034, 1267-1268, 1982.
12. 吳普 等述 : 神農本草經, 北京, 人民衛生出版社, p.13, 17, 26, 64-65, 67, 1963.
13. 金完熙 : 消渴에 應用되는 白虎湯이 Alloxan糖尿에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學

- 校 韓醫大 博士論文, 1-21, 1978.
14. 許鐘會 : 加味六味地黃湯이 streptozotocin 白鼠의 血糖量에 미치는 影響, 서울, 경희대 韓醫大論文集, Vol. 7, 135-152, 1984
 15. 鄭大奎 : 加味地黃湯과 鴨跖草가 實驗的 糖尿에 미치는 影響, 서울, 慶熙大學校 大學院 博士學位 論文, 1988.
 16. 金頸宅 : 六味地黃湯이 Alloxan 投與 흰쥐의 血糖 및 腎障礙에 미치는 影響, 서울, 慶熙醫學, 4, 280-296, 1988.
 17. 李雄禎 : 消渴에 應用되는 黃耆湯 加味方이 KK mouse의 代謝 機能에 미치는 影響, 大邱, 東西醫學, 11: 2: 5-17, 1986
 18. 吳政錫 : 玉泉散이 Alloxan 投與 白鼠 血清의 代謝 基質에 미치는 影響, 서울, 東醫病理學會誌, Vol. 5, 77-78, 1990.
 19. 張世煥 : 加味四物湯이 糖尿에 미치는 影響에 관한 實驗的研究, 大邱韓醫科大學大學院 博士學位論文, 大邱, 1990.
 20. 金秀雄 : 淸心蓮子飲이 Streptozotocin으로 誘發한 白鼠의 高血糖에 미치는 影響, 慶山大學校 韓醫學科 病理學教室, 1991.
 21. C.R. Barnett, G.G. Gibson, C.C. Wolf, P.R. Flatt and C. Ioannides : Induction of cytochrome P-450 III and P-450 IV family protein in streptozotocin-induced diabetes, *Biochem. J.*, 268, 765, 1990.
 22. C. Agius and A.S. Gidari : Effect of streptozotocin on the glutathione S-transferase of liver cytosol, *Biochem. Pharmacol.*, 34, 811, 1985.
 23. M.H. Grant and S.J. Duthie : Conjugation reactions in hepatocytes isolated from streptozotocin-induced diabetic rats, *Biochem. Pharmacol.*, 36, 3647, 1987.
 24. J.B. Watkins, R.A. Sanders and L.V. Beck: The effect of long-term streptozotocin-induced diabetes in the hepatotoxicity of bromobenzene and carbon tetrachloride and hepatic biotransformation in rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 93, 329, 1988.
 25. C.E. Carnovale, J.A. Monti, V.A. Catania and M.C. Carrillo : Possible role of blood insulin levels on glutathione S-transferase activities from different tissues of male rats, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 68, 170, 1989.
 26. M.T. Curtis, D. Gilfor and J.L. Farber : Lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes, *Arch. Biochem. Biophys.*, 235, 644, 1984.
 27. A.W. Cirotti, J.P. Thomas and J.E. Jordan : Lipid photooxidation in erythrocyte ghosts : sensitization of membranes toward ascorbate and superoxide-induced peroxidation and lysis, *Arch. Biochem. Biophys.*, 236, 238, 1985.
 28. M. Nukatsuka, H. Sakurai, Y. Yoshimura, M. Nishida and J. Kawada: Enhancement by streptozotocin of O²-radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic β -cell, *FEBS lett.*, 239, 295, 1988.

29. W. Sumoki, H. baquerizo and A. Ravinovitch : Oxygen free radical scavengers protect rat islet cells from damage by cytokines, *Diabetologia*, 32, 792, 1989.
30. J. Mendola, R. James, J.R. Wright and P.E. Lacy : Oxygen free radical scavengers and immune destruction of murine islets in allograft rejection and multiple low-dose streptozotocin-induced insulinitis, *Diabetes*, 38, 379, 1989.
31. 金信錫, 崔鐘元, 李哲浣 : 高血糖 쥐의 脾臟 酵素 活性에 미치는 生津養血湯의 影響, 大韓韓醫學會誌, 15(2), 423, 1994.
32. 金信錫, 崔鐘元, 李慶姬, 李哲浣 : 生津養血湯이 高血糖 쥐의 血中脂質成分에 미치는 影響, 大韓韓醫學會誌 投稿中, 1995.
33. 黃度淵 : 方藥合編, 서울, 南山堂, p. 186, 1978.
34. S. Reitman and S. Frankel: A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 58, 1957.
35. J.D. Bauer : Clinical laboratory methods (9th ed.), The C.V. Mosby Co., 597, 1982.
36. H. Aebi : Catalase in "Method of enzymatic analysis"(H.U. Vergmeyer, ed.), 2, 673, Academic press, N.Y. 1974.
37. K.V.Rajagopalan, I. Fridovich and P. Handler : Hepatic aldehyde oxidase. In: Purification and properties, *J. Biol. Chem.*, 237, 922, 1962.
38. I. Imai and R. Sato : Evidence for biochemically different types of vesicles in the hepatic microsomal fraction, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 25, 80, 1966.
39. T. Nash : The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the hentsch reaction, *J. Biol. Chem.*, 55, 416, 1953.
40. F. Stripe and C.E. Della: The regulation of rat liver xanthine oxidase: Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(Type D) to oxidase(Type O), *J. Biol. Chem.*, 244, 3855, 1969.
41. T. Omura and R. Sato : the carbon monoxide binding pigments of liver microsomes, In: Evidence for its hemoprotein nature, *J. Biol. Chem.*, 239, 2370, 1964.
42. L.S. Hasegawa and B.D. Hammock : Spectrophotometric assay for mammalian cytosolic epoxide hydrolase using trans-stilbene oxide as the substrate, *biochem. Pharmacol.*, 31, 1979, 1982.
43. A. Meister and P.G. Richman : Regulation of γ -glutamylcystein synthesis by nonallosteric feedback inhibition by glutathione, *J. Biol. Chem.*, 250, 1422, 1975.
44. C.H. Fiske and Y. Subbarow : the colorimetric determination of phosphorus,

- J. Biol. Chem., 66, 375, 1925.
45. E.D. pagila and W.N. Valentine : Studis on the quantitative and qulitative chara cterization of erythrocytes glutathione peroxidase, J. Lab. Clin. Med., 70, 158, 1967.
46. C.E. Mize and R.G. Langdon : Hepatic glutathione reductase. In: Purification and general kinetics properties, J. Biol. Chem., 237, 1589, 1962.
47. W.H. Habig, M.J. Pabist and W.B. Jakoby : Glutathione S-transferase: The first step in mercapturic acid formation, J. Biol. Chem., 249, 7130, 1974.
48. J.R. Dawson and J.W. Bridges : Guinea pig intestinal sulfotransferase: An investigation using the cytosol fraction, Biochem. Pharmacol., 30, 2409, 1981.
49. S. Marklund and G. Marklund : Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, Eur. J. Biochem., 47, 469, 1974.
50. L.A. Reinke, M.J. Meyer and K.A. Notley : Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration, Biochem. Pharmacol., 35, 439, 1986.
51. G.L. Ellman : tissue sulfhydryl group, Arch. Biochem. Biophys., 30, 2409, 1979.
52. H. Ohkawa, N. Ohishi and K. Yaki : Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Annal. Biochem., 95, 351, 1979.
53. O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Rendall : Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
54. M.D. Susan and L.F. Darry : Normobaric oxygen toxicity of the lung, New Engl. J. Med., 303, 76, 1980.
55. R.H. Simonm, C.M. Scoggin and D. Patterson : Hydrogen peroxide causes the fetal injury to human fibroblasts exposed to oxygen radicals, J. Biol. Chem., 266, 7181, 1981.
56. B.A. Freeman and J.D. Crapo : Biology of disease : Free radicals and tissue injury, Lab. Invest., 47, 412, 1982.
57. L.V. favreau and J.B. Schenkman : Composition changes in hepatic microsomal cytochrome P-450 dyring onset of streptozotocin-induced diabetes and during insulin treatment, Diabetes, 37, 577, 1988.
58. D.S. Taylor, H.H.M. Dahl, J.F.B. Mercer, A.K. Green and M.J. Fisher : The effect of streptozotocin-induced diabetes on phenylalanine hydroxylase expression in rat liver, Biochem. J., 264, 185, 1989.
59. P.A. Routledge and D.G. Shand : Presystemic drug elimination, Annu. Res. Pharmacol. Toxicol., 19, 447, 1979.
60. J.B. Schenkman, H. Remmer and R.W.

- Estabrook : Spectral studies of drug interaction with hepatic microsomal cytochrome, *Mol. Pharmacol.*, 3, 113, 1967.
61. R.P. Murilyn and E.C. David : Effect of diabetes on rat liver cytochrome p-450, *Biochem. Pharmacol.*, 31, 3329, 1982.
62. V. Leonard and J.B. Schenkman : Decrease in the levels of a constitutive cytochrome P-450 in hepatic microsomes of diabetic rats, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 142, 623, 1987.
63. J.G. Gillette : A perspective on the role of chemically reactive metabolite. II. Alteration in the kinetics of covalent binding, *Biochem. Pharmacol.*, 23, 2928, 1974.
64. S.R. Howell, G.A. hazelton and C.D. Klassen: Depletion of hepatic UDP-glucuronic acid by drugs that are glucuronidated, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 236, 610, 1986.
65. L.A. Reike, M.J. Meyer and K.A. Notly : Diminished rates of glucuronidation and sulfation in perfused rat liver after chronic ethanol administration, *Biochem. Pharmacol.*, 35, 439, 1986.
66. J.T. Ahkas, C. davies, P.J. Ravenscroft and B.T. Emmerson: Inhibition of soluble glutathione S-transferase by diuretic drugs, *Biochem. pharmacol.*, 33, 1929, 1984.
67. J.T. Ahokas, F.A. Nichollas, P.J. Ravenscroft and B.T. Emmerson : Inhibition of purified rat liver glutathione S-transferase isozymes by diuretic drugs, *Biochem. Pharmacol.*, 34, 1929, 1985.
68. 金信錫 : 生津養血湯이 Streptozotocin糖尿, 酵素活性 및 組織變化에 미치는 影響, 大田 大學校 大學院 博士學位論文, p.56-58. 1994.