

# 桂枝茯苓丸이 Cholesterol 식이 생쥐의 SOD 유전자발현능에 미치는 영향

洪潤杓\*·盧昇鉉\*\*

## ABSTRACT

Effects of geagibokrounghwan (桂枝茯苓丸) on superoxide dismutase gene expression in experimental mouse fed cholesterol

Yun-Pyo Hong, Sung-Hyun Ro

Geagibokrounghwan (桂枝茯苓丸) has long been used to cure human diseases such as vascular and blood disorders. However, it is still unknown on its action mechanism, physiological and biochemical meaning. Thus, many attempts were tried to show the scientific background covering the above mentioned mechanism. The effect of Geagibokrounghwan, which was known to date, as follow; effective circulation of body blood system, proliferation of leucocytes and antioxidative action. In this study, we have applied the Geagibokrounghwan administration and feed to mouse, to see effects on the expression of superoxide dismutase (SOD) mRNA as antioxidative agent and oxygen radical scavenger. Total RNAs including mRNA have been isolated from liver and white blood cells after mice were fed with cholesterol in high dose. Also, in a separate group, the cholesterol-administrated mice were fed with Geagibokrounghwan to see the effects on SOD transcription. and then reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) using each primer set (SOD-F; GATGAAAGCGGTGT-3'; SOD-R; 5'-CCTGTGGAGTGATT-3') were performed to trace the amounts of mRNA. SOD mRNA was specifically expressed in Geagibokrounghwan-fed mice at 2 weeks after treatment, however, gradually reduced after 4 weeks. These results indicate that Geagibokrounghwan is highly applicable in treatment of the above mentioned human diseases.

---

\* 홍윤표 한의원 원장

\*\* 상지대학교 한의과대학 본조방제학교실

## I. 緒 論

桂枝茯苓丸은 漢代 張仲景의 『金匱要略』<sup>19)</sup>에 최초로 收載된 이래 많은 醫家들에 의해 응용되어온 처방으로 一名 奪命丹(丸)<sup>4,12,14)</sup>, 催生湯<sup>7,9)</sup> 등으로도 불리워지며, 婦人에 있어 오래된 癥病을 치료한다고 한다.

本方은 桂枝 茯苓 牡丹皮 桃仁 芍藥이 동일량으로 구성되는데, 桂枝는 發汗解表, 溫經通脈, 助陽化氣하고, 茯苓은 利水滲濕, 健脾寧心하며, 牡丹皮는 清熱涼血, 活血散瘀하며, 桃仁은 活血祛瘀, 潤腸通便하고, 그리고 芍藥은 養血柔肝, 緩中止痛, 斂陰收汗하는 효능으로<sup>1,2,3,11,15)</sup>瘀血 및 그로 인해 유발된 癥瘕 등의 병증을 치료하기 위한 方劑로 활용되고 있다.

임상적으로는 癥閉, 帶下, 滑胎, 전립선비대증, 부인의 각종출혈, 피하출혈, 고지혈증, 자궁출혈, 자궁근종, 난소기능부전, 치질, 타박상, 자궁내막염, 고혈압, 瘀血性 婦人諸疾患, 피부질환 및 血栓證 등의 질환에 널리 응용되고 있다.<sup>23,32,33,39,41,42,46)</sup>

桂枝茯苓丸의 실험적 연구로 이<sup>28)</sup>와 한<sup>31)</sup>이 瘀血病態에 미치는 영향을 보고하였고, 文<sup>25)</sup>은 Endotoxin으로 誘發된 血栓症에 미치는 影響을, 하<sup>30)</sup>는 진통 진경 소염작용에 관한 보고를 하였고, 한편 최<sup>29)</sup>는 子宮筋운동에 미치는 영향을 보고하였으며, 신<sup>26)</sup>은 실험적 肝瘀血에 미치는 영향을 보고하였다.

桂枝茯苓丸의 活血化瘀효능은 고콜레스테롤 식이에 의한 질병의 변화에서 free radical의 생성억제와 연관되는데, 생체내에서 이러한 radical들을 효과적으로 제어하기 위한 항산화작용은 SOD효소가 중요한 역할을 담당한다. 특히 인간의 질병에 있어 SOD 치료법의 가능성은 모든 생화학 고분자들이 Oxygen radical의 해로운 활동을 막기 위해서 도움이 될 수 있기 때문에 점

차로 커져왔다.

이에 본 저자는 새로운 실험방법의 일환으로 桂枝茯苓丸이 高Cholesterol 식이mouse에서 SOD유전자발현능을 조사한 바 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材 料

#### 1) 藥 材

재료는 東醫寶鑑<sup>4)</sup>에 준하였으며 한 첩의 내용과 분량은 다음과 같다.

#### ♣ 桂枝茯苓丸(Geagibokrounghwan)

약 명	학 명	각 량
桂 枝	Cimamomum cassia	12.0g
茯 苓	Poria cocos	12.0g
牧丹皮	Paeonia suffruticose	12.0g
芍 藥	Paeonia lactiflora	12.0g
桃 仁	Prunus persica	12.0g
총 량		60.0g

#### 2) 動 物

실험동물은 일정한 조건하에서 사육한 생후 5~7주된 건강한 체중 30g 내외의 Balb C mouse로 본교의 사육실에서 기른 후 사용하였다. 사육실 온도는 20℃ 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, 마우스용 고형 사료와 물을 제한없이 공급하였다.

#### 3) 시약 및 기기

TaKaRa Catrimox™-14 RNA Isolation Kit Ver 2.11 (TAKARA SHUZO CO., LTD.), TaKaRa RNA LA PCR Kit (AMV) Ver 1.1

(TAKARA SHUZO CO., LTD.)은 TAKARA사, Agarose는 Sigma사, Cholesterol은 Kokusan사, Olive Oil은 Shinyo사에서 구입하여 사용하였으며, 실험에 사용한 기기는 DNA Thermal Cycler 480 (Perkin-Elmer)을 사용하였다.

그의 실험에 사용한 모든 시약들은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다.

## 2. 方 法

### 1) 검액의 조제

桂枝茯苓丸 2貼 (120.0g) 분량에 3배량의 증류수를 가한 다음 100℃에서 3시간 동안 1회 추출하여 여과 한 후 桂枝茯苓丸 추출물 850cc 얻었다.

### 2) 동물의 처치

실험동물은 3개의 군 (정상군, 대조군, 실험군)으로 나누었다. 정상군은 마우스용 고탄사료와 물을 제한없이 공급하였으며, 대조군은 고탄사료 1kg당 Cholesterol 5g을 Olive Oil 200ml에 녹여 고탄사료와 골고루 섞어 1일간 방치한 후 물과 Cholesterol 고탄사료를 제한없이 8주간 공급하면서 4, 6, 7, 8주에 각각 처치하였다. 실험군은 물과 Cholesterol 고탄사료를 제한없이 6주간 공급한 후 桂枝茯苓丸을 1일 1마리당 20cc씩 4주간 음용시키면서 1, 2, 4주에 각각 처치시켰다.

### 3) 혈액으로부터의 RNA분리

Total RNA는 TaKaRa Catrimox™-14 RNA Isolation Kit Ver 2.11(TAKARA SHUZO CO., LTD.)을 사용하여 마우스의 혈액으로부터 분리하였다.

마우스를 마취시킨 후 동공에서 혈액을 채취하여 Catrimox™-14가 들어있는 1.5ml effendorf tube에 첨가하고, 이때 sample은 혈액이 굳어버리

기 전에 빨리 섞어주어야 한다. 상온에서 10분이 상 방치한 후 15000 × g에서 5분동안 원심분리하여 상등액은 버리고 증류수로 pellet이 떨어지지 않도록 조심스럽게 세척한 뒤 lithium reagent를 첨가하여 voltex mixer를 이용하여 15초간 2회 실시하여 잘 섞어주었다. 다시 15000 × g에서 5분 동안 원심분리 한후 상등액은 버리고 pellet은 70% ethanol(in full name DEPC H<sub>2</sub>O)로 조심스럽게 세척하였다. Speed vac.을 이용하여 pellet을 완전히 건조시킨 후 0.1% DEPC가 들어있는 증류수로 RNA를 용해시켰다.

가능하면 바로 다음 실험에 이용하고 그렇지 않을 때에는 -70℃에서 보관하여 사용하였다.

### 4) 역전사 효소 (Reverse Transcriptase)를 이용한 mRNA로부터 cDNA의 합성(Fig 1)

마우스의 혈액으로부터 분리된 RNA는 TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver 1.1 (TAKARA SHUZO CO., LTD.)를 사용하여 cDNA를 만들었다. 이때 사용된 reverse transcription solution은 1 × PCR buffer에 5mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM dNTP, 50pM random 9 mer, 1unit/μl RNase inhibitor, 0.2unit/μl reverse transcriptase와 분리된 RNA (≤ 1μg total RNA)를 잘 섞어 최종 부피가 20μl가 되도록 하였다. 반응 혼합물은 잘 섞은 후 간략하게 원심분리한 다음, 30℃에서 10분, 42℃에서 30분, 99℃에서 5분, 5℃에서 5분간 놓아두었다. 이때 생성된 cDNA는 즉시 PCR실험에 사용하였으며 잔량의 cDNA는 -70℃에 보관하였다.

### 5) Genebank search에 의한 SOD유전자 검출용 primer 제작

본 실험에 사용한 마우스의 Superoxide Dismutase (SOD)의 유전자 정보를 Genebank database system을 이용하여 확보하고 Design한 각 primer는 TAKARA사(Japan)에 의뢰하여 제작하였다(Table 1). 제작된 primer는 1.5ml

effendorf tube에 10 pmole 농도로 희석, 분주하여 -20°C에 냉동 보관하면서 사용하였다.

Table 1. Primer sequences used for the detection of gene expression

Primer name	Oligonucleotide sequence
SOD-F	5'-GATGAAAGCGGTGT-3'
SOD-R	5'-CCTGTGGAGTGATT-3'

F : Forward (sense primer),  
R : Reverse (antisense primer)

#### 6) Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) 및 전기영동

SOD의 유전자 발현능을 조사하기 위해 RT-PCR법을 이용하였으며, 세포내에 발현된 mRNA의 정성적인 분석뿐만 아니라 정량적인 분석에도 RT-PCR 법이 이용되고 있다.

mRNA의 탐색은 특정유전자의 발현 및 기능을 효과적으로 분석할 수 있는 방법으로 이용되고 있으며, 전통적으로 Northern blot등 몇가지 방법에 따라 분석하고 있다. 그러나 PCR이 도입됨으로써 mRNA의 수준을 보다 빠르고 정확하게 분석할 수 있게 되었으며, 이를 RT-PCR이라 한다(Fig. 2). RT-PCR은 크게 reverse transcriptase에 의한 역전사와 내열성 Taq DNA polymerase에 의한 PCR의 연속적인 두 과정에 따라 진행되며, 이때 사용되는 primer의 종류에 따라 세가지 방법으로 나눌 수 있다. 첫번째 방법은 total RNA에 3' (antisense) gene-specific primer를 사용하여 cDNA를 만들고, 이에 5' (sense) primer를 첨가하여 PCR을 진행하는 것이다. 두번째와 세번째 방법은 oligo(dT) primer 또는 random hexamer을 이용하여 total mRNA를 cDNA로 전환시키고, 이에 한 쌍의 gene-specific primer

에 의한 PCR을 진행시키게 된다. 증폭된 cDNA는 보통 agarose gel상에서 예상되는 DNA 크기와 비교함으로써 확인할 수 있으며, ethidium bromide (EtBr) 염색정도에 따라 유전자발현의 수준을 판단할 수도 있다. 이와 함께 증폭된 cDNA는 Restriction digestion 및 hybridization, DNA sequencing 등에 의해 분석 될 수 있으며, gene construction을 위해 클로닝을 수행할수 있다.

여기에서는 random 9 mer에 의한 cDNA의 합성과 이 cDNA를 기질 DNA로 SOD의 유전자 정보를 지닌 DNA 절편을 증폭하는 RT-PCR을 실시하였다 (Fig 1).

마우스의 혈액으로부터 분리된 RNA는 reverse transcriptase를 가지고 cDNA를 만들었으며, PCR은 TaKaRa RNA LA PCR Kit (AMV) Ver 1.1 (TAKARA SHUZO CO., LTD.)을 사용하여 실시하였는데 이때 사용된 primer의 염기배열은 다음과 같다. Sense primer(SOD-F)는 5'-GATGAAAGCGGTGT-3'이고, antisense primer (SOD-R)는 5'-CCTGTGGAGTGATT-3'이다. RT-PCR reaction mixture는 1 × PCR buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2.5units/100μl Tag polymerase, Sense primer (SOD-F), antisense primer (SOD-R), 7μl의 cDNA를 잘섞어 최종부피가 20μl가 되도록 한후 mineral oil 한방울을 첨가하여 PCR을 실시하였다.

PCR증폭은 PCR machine (DNA thermal cycler 480, Perkin-Elmer)을 이용하여 94°C에서 5분간 denaturing, 94°C에서 1분, 50°C에서 1분 그리고 72°C에서 2분으로 하여 50 cycle을 반응시켰다.

생성된 PCR product 15μl에 3μl의 6 × gel loading buffer를 첨가하고 1% agarose gel상에서 DNA Molecular Weight Marker X(0.07-12.2kb)와 함께 100V로 30분간 전기 영동시킨 후 ethidium bromide staining으로 각각의 cDNA를 관찰하였다.

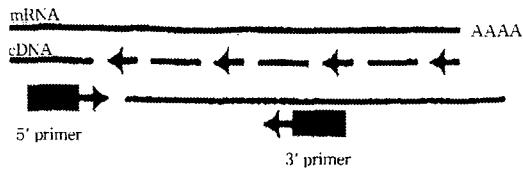


Fig. 1. Random priming method.

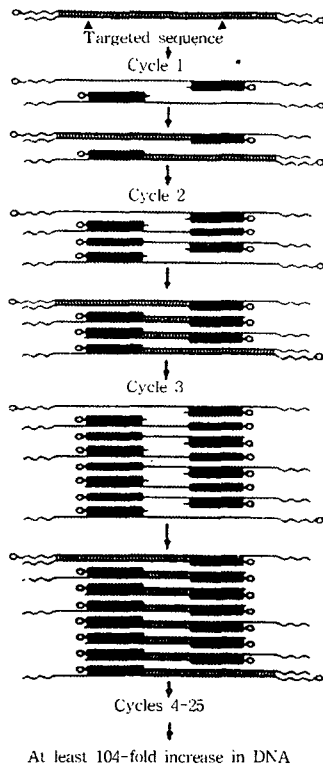


Fig. 2. PCR의 기본 원리.

### Ⅲ. 結 果

#### 1. 정상군과 桂枝茯苓丸 1일 음용 마우스의 SOD 유전자 발현능

정상군의 마우스와 정상 마우스에 桂枝茯苓丸 추출물을 1일간 음용시킨 마우스의 동공에서 각각 혈액을 채취하여 RT-PCR을 실시한 후 1% agarose gel 상에서 전기영동하여 확인한 결과 각각의 마우스에 대한 SOD 유전자의 발현이 거의 비슷하게 보여졌다.(Fig 3)

이 결과로부터 정상마우스와 桂枝茯苓丸 1일 음용 마우스를 비교했을때 정상 마우스나 桂枝茯苓丸을 1일간 음용시킨 마우스에서는 SOD 유전자 발현에 영향을 미치지 않았다.

#### 2. Cholesterol 식이 4주, 6주, 7주, 8주 마우스의 SOD 유전자 발현능

Cholesterol을 각각 4주, 6주, 7주, 8주동안 식이한 마우스의 동공에서 채취한 혈액으로 RT-PCR을 실시한 후 1% agarose gel 상에서 전기영동하여 확인한 결과 SOD의 유전자 발현을 볼 수 없었다.(Fig 4, 5, 6, 7)

이것으로 보아 Cholesterol을 4주에서 8주동안 공급한 마우스는 SOD 유전자 발현을 억제시키고 나아가 고지방과다섭취는 SOD 유전자발현에 영향이 있음을 확인할 수 있다.

#### 3. Cholesterol 투여 6주후 桂枝茯苓丸 음용 1주, 2주, 4주된 마우스의 SOD유전자 발현능.

Cholesterol식이 6주후 桂枝茯苓丸을 1주, 2주, 4주간 음용시킨 마우스의 동공에서 채취한 혈액으로 RT-PCR을 실시한후 1% agarose gel 상에서 전기영동하여 확인한 결

과 Cholesterol 식이 6주후 桂枝茯苓丸을 1주간 음용한 마우스에서는 약간의 SOD 유전자 발현을 볼 수 있었는데 이것은 Cholesterol의 과다에 의한 SOD 유전자 미발현이 桂枝茯苓丸의 섭취로 다시 SOD 유전자가 조금씩 발현됨을 나타내는 것으로 사료된다. (Fig. 6)

한편 Cholesterol 식이 6주후 桂枝茯苓丸을 2주간 음용한 마우스에서는 1주간 음용시켰을때 보다 SOD 유전자의 발현이 더욱 현저하게 나타남을 확인할 수 있었으며, 桂枝茯苓丸을 다시 2주간 더 음용시킨 마우스의 경우 2주간 음용시킨 경우보다 SOD 유전자의 발현의 적게됨을 알 수 있었다. (Fig 7)

이것으로 보아 桂枝茯苓丸의 음용은 Cholesterol로 인해 전혀 발현되지 않던 SOD 유전자 발현에 도움이 되는 것을 알 수 있었으나, 桂枝茯苓丸의 과다섭취도 SOD 유전자 발현에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

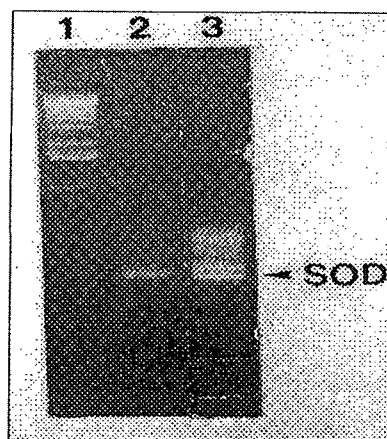


Fig. 3. Detection of SOD gene expression by RT-PCR in normal group and mouse fed geagibokrounghwan for 1 day.

Lane

1. Molecular size marker.
2. Normal serum as control.
3. Mouse fed geagibokrounghwan for 1 day.

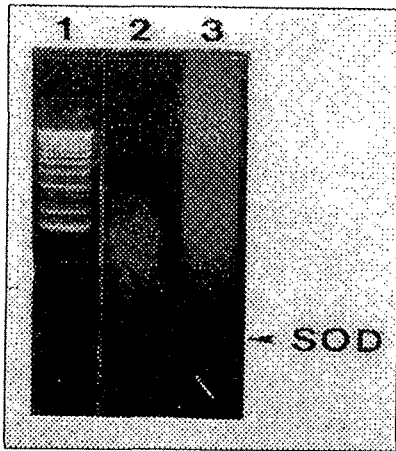


Fig. 4. Detection of SOD gene expression by RT-PCR in mouse fed cholesterol for 4 weeks.

Lane 1. Molecular size marker.  
 2-3. Mouse fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 4 weeks.

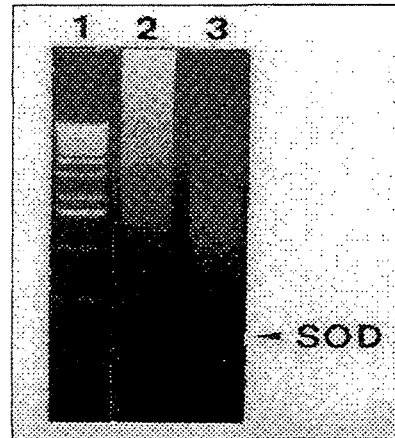


Fig:5. Detection of SOD gene expression by RT-PCR in mouse fed cholesterol for 6 weeks.

Lane 1. Molecular size marker.  
 2-3. Mouse fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 6 weeks.

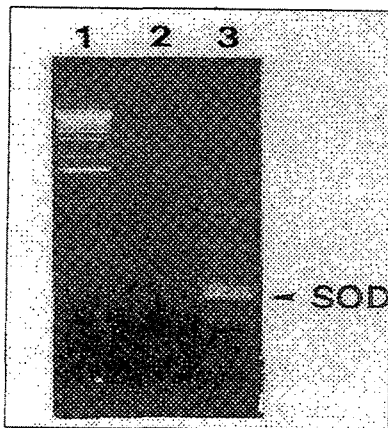


Fig. 6. Detection of SOD gene expression by RT-PCR in mouse fed cholesterol for 7 weeks and fed geagibokrounghwan for 1 week after fed cholesterol for 6 weeks.

Lane 1. Molecular size marker.  
 2. Mouse fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 7 weeks.  
 3. Mouse fed geagibokrounghwan for 1 week after fed cholesterol for 6 weeks.

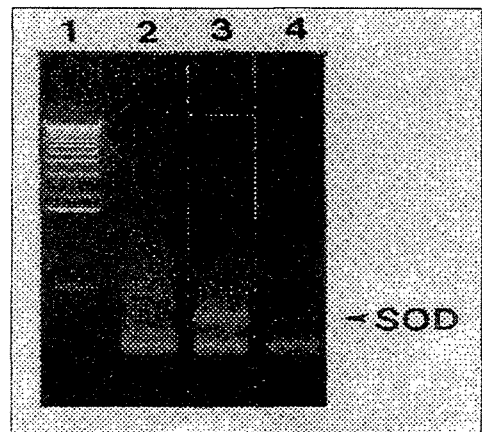


Fig 7. Detetcion of SOD gene expression by RT-PCR in mouse fed cholesterol for 8 weeks and fed geagibokrounghwan for 2, 4weeks after fed cholesterol for 6 weeks.

Lane 1. Molecular size marker.  
 2. Mouse fed basal diet containing 0.5% of cholesterol for 8 weeks.  
 3. Mouse fed geagibokrounghwan for 2 weeks after fed cholesterol for 6 weeks.  
 4. Mouse fed geagibokrounghwan for 4 weeks after fed cholesterol for 6 weeks.

#### IV. 考 察

桂枝茯苓丸은 漢代 張仲景의 『金匱要略』<sup>20)</sup>에 최초로 收載된 이래 많은 醫家들에 의해 응용되어온 처방으로 一名 奪命丹(丸)<sup>4,12,14)</sup>, 催生湯<sup>7,9)</sup> 등으로도 불리워지며, “婦人宿有癥病, 經斷未及三月, 而得漏下不止, 胎動在上者, 爲癥瘕害. 妊娠六月動者, 前三月經水利時, 胎也. 下血者, 後斷三月不也. 所以血不止者, 其癥不去故也, 當下其癥, 桂枝茯苓丸主之”한다고 한다.

本方은 桂枝 茯苓 牡丹皮(去心) 桃仁(去皮尖, 熬) 芍藥이 동일량으로 구성되고, 이를 가루로 하여 煉蜜로 토끼똥크기의 丸을 만들고 매일 식전에 한알씩 복용하는데 효과가 없으면 세알까지 늘려 복용한다고 하였다.<sup>18)</sup> 方中의 桂枝는 發汗解表 溫經通脈 溫陽化氣하는 효능이 있어 鎮靜, 抗驚厥, 鎮痛解熱, 活血通經, 止咳, 利尿, 抗菌 그리고 抗과민반응 등이 있고, 茯苓은 益脾利竅除濕, 利水滲濕, 健脾和中, 寧心安神하는 효능이 있어 利尿, 鎮靜, 抗腫瘍, 세포면역촉진, 위궤양억제 및 혈당강화작용 등이 있으며, 牡丹皮는 瀉血中伏火, 化血生血, 破積血 通經脈, 清熱涼血, 活血祛瘀하는 효능이 있어 抗병원미생물, 抗炎, 降壓, 鎮痛, 抗驚厥 등의 작용이 있으며, 桃仁은 泄血滯, 緩肝氣, 生新血, 通大腸血秘, 破血祛瘀, 潤燥滑腸하는 효능이 있어 鎮痛消炎과 抗결핵작용이 있으며, 그리고 芍藥은 瀉肝火, 散惡血, 利小腸, 清熱涼血, 活血祛瘀하는 효능이 있어 鎮靜, 鎮痛, 抗菌작용등이 있다고 한다.<sup>2,3,5,11,15)</sup>

本方은 瘀血을 제거하는 표준처방으로 虛實의 중간의 證에 속하고 다만 裏熱實證에 약간 치우친 瘀血과 관련된 광범위한 病證에 적용되는데<sup>22)</sup>, 桃仁과 牡丹皮가 瘀血을 제거하고 消腫

止痛작용을 증가시켜 주요 치료약물이 되고, 桂枝가 溫經通脈하고 行氣血함으로서 血의 停滯를 제거하고 止痛함으로서 보조적으로 작용하고 芍藥은 佐藥이 되며 茯苓은 水滯를 배출하는 使藥으로 처방구성형태를 취하고 있다.<sup>22)</sup> 徐<sup>18)</sup>는 桂枝와 芍藥의 陰陽배합과 茯苓 牡丹皮의 氣血배합으로 寒熱대사를 조절하며 면역기능을 향진시키고, 桃仁으로서 병적요인을 제거한다고 하였으며, 아울러 癥의 초기는 寒한데 계지의 化氣작용이 本寒을 제거하고, 癥病의 발전기에는 濕熱이 수반되어 窠囊이 되는데 茯苓이 滲濕氣하고 牡丹皮로서 清血熱하며, 芍藥의 斂肝血과 扶脾로서 統血시킨다고 하였다.

『婦人良方』에서는 婦人の 小産이나 子死腹中으로 인한 증상이나, 藥物誤服으로 인한 胎動不安에 사용하였고, 『濟陰綱目』에서는 妊婦가 出産에 임하여 腹痛과 腰痛이 보이고 胞漿이 이미 아래로 나온 경우에 복용하면 催生の 효과가 있다고 하였다. 『方輿輓』에서는 본 처방을 産前에 사용하면 催生하고 産後에 사용하면 惡露停滯와 心腹疼痛을 치료하며, 또한 死胎를 배출하고 胞衣를 내린다고 하였다. 『證治準繩』에서는 본 처방을 牡丹丸이라 하여 胞衣不下로 瘀血上冲한 위험한 證을 치료한다고 하였다.<sup>18)</sup> 王<sup>35)</sup>은 桂枝茯苓丸의 藥性이 和平하고 寒溫이 相宜하여 祛瘀하되 耗血하지 않고, 攻堅하되 正氣를 상하지 않아서, 活血化瘀, 消癥散結하는데 효과가 좋은 方劑가 된다고 하였다.

임상적으로는 活血化瘀 緩消癥塊하는 효능이 있는 軟堅逐瘀法의 대표적인 方劑<sup>13)</sup>로 癥閉, 帶下, 滑胎, 전립선비대증, 부인의 각종출혈, 피하출혈, 고지혈증, 자궁출혈, 자궁근종, 난소기능부전, 치질, 타박상, 자궁내막염, 고혈압, 瘀血性 부인의 갱년기장애, 피부질환 및 血栓證 등의 질환에 널리 응용되고 있으며<sup>10,17,23,32,33,39,41,42,46)</sup> 실험적연구를 통하여 항혈소판응집효과, 혈액점도의 개선작용, 抗腫양효과 및 손상된 간질환에



유효함이 입증된 바 있다.<sup>23,24,26,27)</sup>

이외에도 임상적으로 小蓐<sup>45)</sup>와 祝<sup>40)</sup>은 桂枝茯苓丸加味方이 만성신부전 환자에서 유효하다는 임상보고를 하였고, 東은<sup>44)</sup> atrophy성 피부염의 안면홍조에 본 처방의 효과를 제시하면서 미소순환조절작용이 있고 특히 芍藥과 桂皮는 말초혈관확장작용이, 桃仁, 牡丹皮, 芍藥과 桂皮는 혈액응고억제작용이 있다고 하였다. 또한 今田屋<sup>43)</sup>은 자궁내의 낭종상의 腫瘤에 효과적이라고 하였다. 한편 劉는<sup>36)</sup> 계지복령환은 活血化癥 調和氣血 平衡陰陽하는 方劑로서 瘀血內阻 損傷衝任 氣血運行失常으로 인한 질병에 활용되는데 陳舊性宮外孕, 慢性盆腔炎, 痛經 등 病名은 다르지만 病機가 같아 모두 瘀血內阻로 衝任이 손상된 것이 속한다고 하였다.

桂枝茯苓丸이외에도 『神農本草經』에서는 活血, 化癥, 破血, 消癥하는 약물을 제시하였으며<sup>6)</sup>, 隋唐시기에는 무역의 발달로 보다 많은 活血化癥약물의 활용이 있었으며<sup>37)</sup>, 清代에 들어와서도 여러 질환의 病因을 瘀血로 보고 치료에 活血化癥法을 운용하였는데 특히 王<sup>16)</sup>과 唐<sup>8)</sup> 등의 영향으로 지금의 동양의학에서도 여러 의가들에 의하여 瘀血 및 그로 인하여 유발되는 諸病證에 관한 활발한 연구와 瘀血方劑의 다양한 활용이 시도되어지고 있다.<sup>34,35)</sup> 특히 李<sup>38)</sup>는 活血化癥法은 瘀血을 치료하는 중요한 방법으로 疏通經絡하고 祛癥生新하며 破癥化結하고 止血定痛하는 등의 작용이 있으며 桂枝茯苓丸 등은 活血化癥의 名方이라 하였다.

飲食不節이나 肥甘한 음식을 많이 섭취하여 水濕이 체내에 停聚하므로써 생성되는 痰 혹은 瘀血은 서의학의 高지방 高콜레스테롤성 음식물로 발생되는 高脂血症과 유사하며 高脂血症은 동맥경화를 야기시킬 뿐 만 아니라 眩暈 中風 冠心病 心筋梗塞등이 나타난다고하여 體肥 多痰과 고지혈증이 밀접한 관계가 있음을 설명하였다.<sup>21)</sup>

이러한 고콜레스테롤성 식이에 의한 질병으로의 변화는 1956년 Harman이 주창한 free radical의 생성과 관련될 수 있으며 한의학적으로 瘀血개념과 유사한 것으로 인식할 수 있을 것이다.

산소를 이용하는 생물체의 정상적인 대사과정에서 지속적으로 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydroxyl radical(OH<sup>-</sup>)과 hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)등 반응성이 큰 oxygen species가 생성된다는 증거들이 제시되었고<sup>48)</sup>, 또한 radical에 의해 막성분인 인지질의 불포화지방산에 의해 생성된 불안정한 지질 과산화물들이 분해에 의해 이차적인 radical들을 생성할 수 있다.<sup>49)</sup> 생체내에서 이러한 radical들을 효과적으로 제거하기 위한 여러 효소 및 항산화제들이 존재한다. 효소로는 superoxid dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase 등이 있는데 SOD는 우선 O<sub>2</sub><sup>-</sup>를 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 변환시키며 peroxisome의 catalase가 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 무해한 물과 산소로 분해한다. glutathione peroxidase 역시 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 물로 변환시킨다.<sup>47)</sup>

桂枝茯苓丸의 活血化癥효능과 생체내에서 이러한 radical들을 효과적으로 제어하기 위한 항산화작용과는 유사한 관련성을 가지며, 따라서 세포내에서 항산화 효소유전자의 발현능을 처방과 관련지어 실험적으로 조사하는 것은 의의가 있으리라 생각되며, 특히 인간의 질병에 있어 SOD의 치료법의 가능성은 모든 생화학 고분자들이 풍부한 Oxygen radical의 해로운 활동을 막기 위해서 도움이 될 수 있기 때문에 점차로 커져왔다.

따라서 저자는 이러한 유관성을 바탕으로 고콜레스테롤 식이 마우스에서 SOD유전자의 발현을 조사하였는데, 먼저 콜레스테롤을 장기간 식이하였을 경우 SOD유전자의 발현능이 거시소실됨을 발견할 수 있었으며, 콜레스테롤 섭취 6주후부터 계지복령환을 2주간 투여한 마우스에서는 SOD유전자 발현능이 강하게 나타남을

확인할 수 있었다. 이로서 活血化瘀시키는 桂枝 茯苓丸이 항산화작용에 어떠한 형태로 작용하는 것을 인정할 수 있었다. 그러나 다시 4주간 지속적으로 桂枝茯苓丸을 투여하였을 경우에는 SOD유전자 발현능이 비교적 약하게 나타남으로서 과다섭취도 SOD유전자 발현에는 큰 도움이 될 수 없다는 설명을 가능하게 하였는데, 이에 대한 새로운 연구가 앞으로 많이 나오리라 기대한다.

## V. 結 論

콜레스테롤 식이 mouse에 대한 계지복령환의 항산화작용을 관찰하기 위하여 SOD유전자 발현능을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 정상 mouse와 계지복령환을 1일 음용시킨 mouse를 비교하였을 때 계지복령환투여군은 SOD발현에 큰 영향을 주지 않았다.
2. Cholesterol을 각각 4주, 6주, 7주, 8주간 식이한 mouse에서는 SOD유전자 발현을 나타내지 않았다.
3. Cholesterol 식이 6주후 계지복령환을 1주와 4주동안 식이한 mouse에서는 약간의 SOD 유전자 발현능을 나타내었다.
4. Cholesterol 식이 6주후 계지복령환을 2주동안 식이한 mouse에서는 가장 큰 SOD유전자 발현능을 나타내었다.

이상의 결과로부터 계지복령환은 유해산소의 활성을 방지할 수 있는 항산화효소 SOD유전자 발현능이 있음을 확인하였다. 그러나 계지복령환의 지속적인 투여도 문제점으로 남아 있으며

로 이에 대한 많은 연구가 기대된다.

## VI. 參 考 文 獻

1. 강병수 외: 本草學, 永林社, 한국, p.124, 302, 193, 581, 423, 1991.
2. 李尙仁 外: 漢藥臨床應用, 成輔社, 서울, p.46, 47, pp.79-81, 124-125, 171-173, 317-320, 339-340, 1982.
3. 李尙仁: 本草學, 서울, 修書院, p.191, 230, 281, 282, 295, 296, 466, 467, pp.469-471, 533-534, 1981.
4. 許浚: 東醫寶鑑, 南山堂, 서울, p.487, pp.490-491, p.614, 712, 727, 1976.
5. 江蘇新醫學院編: 中藥大辭典(下), 香港, 上海科學技術出版社, 1978, p.1598, 1773.
6. 姜春華: 中醫對痧的認識及其治療方法, 上海, 上海科學技術出版社, 1981, p.2, pp.4-10, 12-13.
7. 龔庭賢: 增補萬病回春, 서울, 醫文社, p.250, 1975
8. 唐容川: 中西淮通醫書五種(下), 서울, 東南出版社影印, 1984, p.1119, pp.1198-1206.
9. 武之望: 濟陰綱目, 台北, 旋風出版社, p.264, 365, 384, 1976.
10. 白剛 等: 中藥方劑研究與應用, 北京, 中國科學技術出版社, 1995, pp.775-783.
11. 范崔生: 中藥的應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.50-51, 84-88, 121-123, 202-204, 268-269, 271-272, 1989.
12. 沈金鰲: 婦科玉尺, 台北, 自由出版社, p.101, 1969.
13. 顏德馨: 活血化瘀療法臨床實踐, 云南人民出版社, 1980, pp.1-10, 33-40.
14. 王肯堂: 女科準繩(卷四), 台北, 集文書局, p.350, 1974.

15. 王浴生 外：中藥藥理與應用，北京，人民衛生出版社， pp.67-74, 529-531, 767-769, 862-864, 1983.
16. 王清任：醫林改錯，台北，台聯國風出版社，1975, pp.1-71.
17. 魏菊仙 等：中醫名方應用進展，北京，中國醫藥科學技術出版社，1991, pp.419-423.
18. 李克光 等：金匱要略，人民衛生出版社，北京，1989, p.557.
19. 張機：金匱要略方論，台北，臺聯國風出版社(卷下)，p.93, 1973.
20. 張機(蔡仁植譯)：傷寒論譯註，高文社，서울，1975, pp.177,188.
21. 宗文九：痰飲淺說，上海，上海科學技術出版社，pp.1-9,24-25,51-59, 1985.
22. 高山宏世：中醫方劑病證圖解，山西科學技術出版社，1991, pp.274-275.
23. 久保道德，谿忠人：漢方醫藥學，서울，東南出版社影印，p.205, 227, 312, 1984.
24. 松岡健平 外：성인병의 예방과 치료，서울，일월각， pp.133-134, 137-138, 154-155, 184-185, 1987.
25. 文宗模：桂枝茯苓丸，抵當湯 및 桂枝茯苓丸合抵當湯이 Endotoxin으로誘發된 白鼠의 血栓症에 미치는 影響，대전대학교 대학원 석사학위논문，1996.
26. 申鎮湜：실험적 肝瘀血에 미치는 桂枝茯苓丸 및 그 加味方의 효과에 관한 연구，경희대학교대학원 박사학위논문，1985.
27. 松岡健平 外：성인병의 예방과 치료，서울，일월각， pp.133-134, 137-138, 154-155, 184-185, 1987.
28. 이필래：桂枝茯苓丸과 그 構成 藥物이 瘀血病態에 미치는 影響，경희대학교 박사학위논문，1997.
29. 崔奎燮：桂枝茯苓丸 煎湯液이 白鼠 子宮筋의 諸運動 및 血液像에 미치는 影響，원광대학교 대학원 석사학위논문，1986.
30. 하동주：桂枝茯苓丸이 實驗動物의 鎮痛.抗痙攣.筋弛緩 및 正常體溫에 미치는 影響，원광대학교 대학원 석사학위논문，1993.
31. 한승섭：桂枝茯苓丸이 瘀血病態模型에 미치는 影響，경희대학교 석사학위논문，1992.
32. 高嵩：桂枝茯苓丸治療前列腺肥大證，浙江中醫雜誌，(11):493, 1983.
33. 董杏初，谷明志：桂枝茯苓丸治療癰閉，四川中醫，(9):26, 1989.
34. 梁達翰：活血化瘀在內科臨床的應用，遼寧中醫雜誌，4:26, 1985.
35. 王瑞根：桂枝茯苓丸의 臨床運用，雲南中醫雜誌，6:41-42, 1980.
36. 劉緒英 等：河南中醫，제15권 제6기,pp.74-75, 1995.
37. 陸永昌：活血化瘀法的源流簡述，山東中醫學院學報，Vol. 6, No.4, p.61, 1982.
38. 李玉華：活血化瘀法異病同治五則，雲南中醫雜誌，4:7, 1982.
39. 肖澤泉：桂枝茯苓丸治帶證癰閉，四川中醫，(8):38, 1989.
40. 祝建華：桂枝茯苓丸治療 慢性腎炎 98예，河南中醫，제16권 제2기，p.17, 1996.
41. 夏禮清：桂枝茯苓丸用于多種婦科血證小結，浙江中醫雜誌，(6):254, 1983.
42. 黃道富，肖美珍：桂枝茯苓丸治滑胎，四川中醫，(6):19, 1989.
43. 今田屋 章：漢方の臨床，제6권，pp.87-99, 1996.
44. 東一經：漢方の臨床，제10권，pp.11-15, 1995.
45. 小暮敏明 等：日本東洋醫學雜誌，제47권 제1호，pp.43-48, 1996.
46. 重久守雄：桂枝茯苓丸エキス가著效レた皮下出血の2例，瘀血研究，6:87-88.
47. Autor, A. ed. Pathology of Oxygen. Academic Press, Newyork (1982)

48. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A.,  
Phys.Rev., 59, 527-605 (1979)

49. Cross, E.C., Halliwell, B., Borish, E.T.,

Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L.

Mccord, J.M. and Harman, D., Ann

Intern. Med., 197, 526-545 (1987)