

保元湯이 CCl₄로 유도된 간중독 Mouse에 미치는 영향

朴鍾欽 · 朴宣東 · 朴元煥¹⁾

東國大學校 韓醫學科 方劑學教室, ¹⁾ 診斷學教室

【초록】 본 연구는 保元湯이 CCl₄로 유도된 간중독 mouse에 미치는 효과를 조사하였다. 실험동물은 3개의 군(정상군, 대조군, 약물투여군)으로 나누었다. 정상군은 마우스용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였으며, 대조군은 7일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6ml을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 물을 2주간 제한 없이 공급하였으며 약물투여군은 7일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6ml을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 保元湯 추출물을 kg당 900mg씩 2주간 음용시켰다. 保元湯 추출물은 지질과산화 반응에 주요원인이 되는 자유기에 대한 직접적인 소거능을 나타내었고 혈청중 GPT, GOT, ALP 및 LPO는 대조군에 비해 약물투여군이 유의성 있는 감소를 나타내었으며 GSH 함량 및 catalase 활성은 약물투여군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 이 결과들로 보아 CCl₄로 유도된 mouse의 간손상에 保元湯이 유효한 것으로 확인되었으며 앞으로 이에 대한 심도 있는 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

중심말 : 간손상, 保元湯, carbon tetrachloride (CCl₄)

I. 緒 論

保元湯은 明代 魏直¹⁾의 『博愛心鑑』에 처음 수록되어 있으며 소아의 慢驚風과 痘疹을 치료한다고 하였는데, 許等^{2,3,4,5)}은 痘瘡, 嬰兒驚怯 등에도 활용하였다. 本方은 人蔘, 黃芪, 甘草의 補氣하는 약물로 구성되어 『蘭室秘藏』²⁾의 黃芪湯과 같으며 『景岳全書』⁴⁾에서는 調元湯이라고 하였다.

본 방중의 人蔘은 甘微苦溫한 性味로 大補元氣, 固脫生津, 安神하며, 黃芪는 甘溫한 性味로 生用하면 補氣升陽, 益衛固表, 利水消腫, 托毒生肌하며, 灸用하면 補中益氣, 生血生肌, 排膿

內托하고, 甘草는 甘平無毒한 性味로 和中緩急, 潤肺, 解毒, 清熱, 調和諸藥하는 效能이 있다. 특히 人蔘과 黃芪의 配伍는 강력한 補氣助元 작용을 한다.^{6,7,8,9,10,11)}

임상적으로 保元湯은 주로 痘疹, 痘瘡, 痘癰 등의 외과 질환과 嬰兒驚怯, 慢驚風, 驚搐 등의 소아과 질환에 활용되어 왔으며^{1,2,3,4,5)} 특히 王等^{12,13)}은 本方을 元氣不足으로 인한 狹心症, 心筋梗塞, 慢性腎炎, 再生不良性 貧血 등의 질환에도 활용한다고 하였다.

氣虛는 倦怠乏力, 語聲低微, 呼吸氣短, 自汗, 細軟脈無力 등으로 주로 元氣不足과 臟腑機能衰退 및 病邪를 防禦하는 機能低下 등의 病因으로 發

생한다.¹⁴⁾ 임상에서 慢性肝炎, 動脈硬化症, 高血壓 등의 다수가 肝氣虛證의 범주에 속하며, 肝氣虛와 관련된 慢性肝炎은 右脇脹隱痛, 肝腫大質軟, 頭暈目眩, 精神不振, 易悲怯, 食欲不振, 舌淡苔薄, 脈細弱 등의 증후를 나타내며¹⁵⁾ 治療는 補肝氣하는 人蔘, 黃芪, 白朮 등을 주로 사용하고 있다.^{15,16)}

한의학계에서는 오랫동안 사염화탄소로 유도된 간손상과 관련된 효능 연구가 지속되어 왔는데 대부분 肝鬱치료에 활용되는 小柴胡湯 혹은 逍遙散계통^{17,18)}이나, 肝膽의 濕熱을 치료하는데 활용되는 茵陳蒿湯 그리고 龍膽瀉肝湯과 같은 계열^{19,20)}이 대부분을 차지하며, 氣虛를 치료하는 처방이 사염화탄소 중독 mouse에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 보고는 보이지 않는다.

이에 저자는 補氣助元시키는 효능이 있는 保元湯의 간기능 회복능을 알아보기 위하여 CCl₄로 유도된 간중독 mouse에 保元湯을 음용시킨 후 혈청중의 GOT, GPT, ALP 및 조직내 GSH, Catalase의 활성도 및 LPO 함량을 비교 분석한 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

본 방은 東醫寶鑑³⁾에 준하여 시중에서 구입하여 정선한 것을 사용하였으며 한 첩의 내용과 분량은 다음과 같다.

保元湯		
藥名	學名	各量
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	8g
黃芪	<i>Astragalus Membranaceus</i>	4g
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4g
總 量		16g

2) 動物

실험동물은 건강한 체중 30g 내외의 ICR계 수컷 mouse로 5일간 사육실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 20℃ 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

3) 試藥

본 실험에 사용한 시약은 carbon tetra chloride, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), bovine serum albumine, 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)(DTNB), sodium dodecyl sulfate(SDS), Thiobarbituric acid(TBA), sulfosalicylic acid, potassium phosphate, Malondialdehyde tetrabutylammonium salt 등은 SIGMA사에서 구입하였으며, Hydrogen peroxide 및 n-butanol, ethanol, methanol, acetic acid와 기타 시약은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였으며, glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase (GPT) 측정용 kit, alkaline phosphatase (ALP) 측정용 kit는 아산제약에서 구입하여 사용하였다.

2. 方法

1) 검액의 조제

保元湯 20첩 분량(320g)에 3배량의 증류수를 가한 다음 3시간 동안 1회 중탕하여 여과한 후 농축하고 동결건조 한 후 保元湯 추출물 57.02g을 얻었다.

2) DPPH radical 소거효과 측정

保元湯 추출물의 free radical에 대한 소거효과를 알아보기 위해 Hatano등의 방법²¹⁾에 따라 DPPH radical 소거효과를 측정하였다. 保元湯 추출물을 증류수에 농도별로 녹인 후 이 혼합물 4ml과 1.5×10⁻⁴M DPPH/MeOH 1ml을 혼합하여 잘 흔들어 주고 실온에서 30분동안 방치한 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 동물의 처치

실험동물은 3개의 군(정상군, 대조군, 약물투여군)으로 나누었다. 정상군은 마우스용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였으며, 대조군은 7일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6ml을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 물을 2주간 제한 없이 공급하였으며 약물투여군은 7일간 마우스용 고형 사료와 물을 제한 없이 공급한 후 carbon tetrachloride (CCl₄)를 실험 동물의 체중 kg당 0.6ml을 1일간 복강 주사하여 마우스용 고형사료와 保元湯 추출물을 kg당 900mg씩 2주간 음용시켰다. 모든 실험 동물은 실험전 18시간 동안 물만 주고 절식 시켰다.

4) 생체시료의 제조

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복하여 복부 대동맥에서 채혈하였으며 채혈한 혈액은 실온에서 1시간 동안 방

치한 다음 혈청을 분리하여 GOT, GPT, ALP 측정 효소원으로 사용하였다. 생리 식염수로 관류시킨 간은 조직이 손상되지 않도록 주의하여 혈액이 충분히 제거될 때까지 생리 식염수에 잘 씻어내고 whatman 여과지로 식염수를 제거한 후 -70℃에 동결 보존하여 사용하였다. 효소 활성도 측정을 위해 전체 조직의 4배 용량의 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 4분간 균질화 하였다. 이 균질액을 110×g에서 15분간 원심 분리하여 상층액은 과산화지질 (lipid peroxide) 및 glutathion 함량을 측정하기 위한 시료로 사용하였고, 나머지 상층액은 600×g에서 15분간 원심분리 하여 핵과 세포잔해를 제거한 상층액을 취한 후 다시 12,000×g에서 30분 동안 원심분리 하여 미토콘드리아를 제거한 상층액을 catalase의 활성도를 측정하기 위한 시료로 사용하였다. 상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는 한 0~4℃에서 실시하였다(Fig. 1).

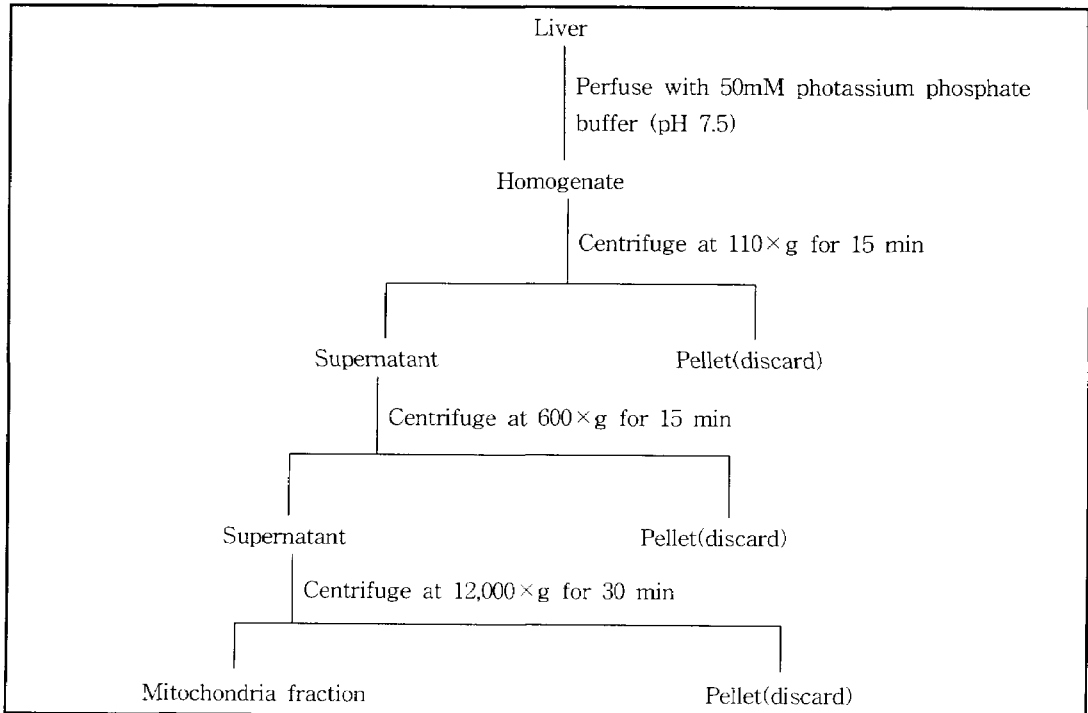


Fig. 1. Preparation of hepatic mitochondrial fractions for enzyme studies.

5) 효소활성의 측정

(1) 혈청중 GOT 및 GPT 활성 측정

혈청중 GOT 및 GPT 활성 측정은 Reitman-Frankel의 방법²²⁾에 따라 조제된 시약 kit(아산제약)를 사용하여 측정하였다. GOT, GPT 기질액 1.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2ml을 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 GOT는 60분, GPT는 30분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0ml을 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4N NaOH 용액 10ml을 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505nm에서 증류수를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 GOT, GPT의 활성도는 작성한 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1ml당 karmen unit로 나타내었다.

(2) 혈청중 ALP 활성 측정

혈청중 ALP 활성 측정은 Petkova등의 방법²³⁾에 따라 조제된 시약 kit(아산제약)를 사용하여 실시하였다. 기질액 2.0ml을 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치 한 후 여기에 혈청 0.05ml을 가하여 잘 혼합하여 37°C에서 정확히 15분간 반응 시켰다. 정색시액 2.0ml을 넣고 충분히 혼합한 후 실온에서 10분 이상 방치시키고 60분 이내에 500nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 ALP의 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 dl당 King-Armstrong unit로 나타내었다.

(3) Lipid peroxide (LPO)함량측정

조직내 LPO함량 측정은 Ohkawa등의 방법²⁴⁾에 따랐다. 조직 마쇄 균질액을 1,000×g에서 원심분리한 후 상층액을 취해 8.1% sodium dodecyl sulfate, 20% acetate buffer (pH 3.5) 및 0.8% thiobarbituric acid (TBA) 용액을 가 95°C에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA

reactive substance를 n-butanol : pyridine (15:1) 혼합액으로 이행시켜 파장 532nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 생성된 시료의 malondialdehyde(MDA)농도는 free MDA로 표준선을 구하여 계산하였으며 MDA함량은 조직 mg당 nmoles로 나타내었다.

(4) Glutathion (GSH)함량측정

조직내 GSH 함량측정은 Ellman등의 방법²⁵⁾에 따랐다. 조직 균질액을 1,000×g에서 원심분리 한 후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 1000×g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 1mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치 한 후 412nm에서 흡광도를 측정하였으며 GSH 함량은 protein 1mg 당 nmoles 로 나타내었다.

(5) Catalase 활성측정

조직내 catalase 활성도는 Aebi의 방법²⁶⁾에 따라 측정하였다. 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10mM H₂O₂ 용액을 가하여 파장 240nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 10mM H₂O₂ 용액 대신에 50mM photassium phosphate buffer (pH 7.0)을 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 1μM의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(6) 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry등의 방법^{27,28)}에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질을 정량 하였다.

6) 통계처리

실험결과는 평균과 표준 편차로 표현하고 유의성 검증은 Sigma Plot(Window용 version 3.0)을 이용하여 unpaired t-test를 실시하였다.

Ⅲ. 實驗結果

1. DPPH radical 소거효과 保元湯의 DPPH radical에 대한 소거효과를 관찰한 결과 保元湯의 중량 1000, 800, 600, 400, 300, 200, 100, 50 μ g에 서 각각 39.78 ± 2.62 , 36.02 ± 0.70 , 33.06 ± 1.89 , 32.72 ± 1.08 , 28.76 ± 3.05 , 26.08 ± 1.55 , 20.70 ± 4.00 , $16.67 \pm 4.52\%$ 의 농도 의존적인 radical 소거효과를 나타내었다(Table. 1, Fig. 2).

Table 1. Scavenging effect of Bowontang on DPPH radical

Mass unit (μ g)	Activity* (%)
1000	39.78 ± 2.62
800	36.02 ± 0.70
600	33.01 ± 1.89
400	32.72 ± 1.08
300	28.76 ± 3.05
200	26.08 ± 1.55
100	20.70 ± 4.00
50	16.67 ± 4.52

The effects of Natural Products on DPPH radical were determined according to the method of Hatano*. Natural Products in 4ml of distilled water were added to a methanolic solution of DPPH(1.5×10^{-4} M, 1ml). The mixture was shaken and left to stand at room temperature for 30min ; the absorbance of the resulting solution was measured spectrophotometrically at 517nm. (Control O.D. \Rightarrow 4ml of distilled water + 1ml of 1.5×10^{-4} H DPPH / MeOH)

*Radical Scavenging Activity(%) = [(Control O.D.-Experimental O.D.)/Control O.D.] \times 100.

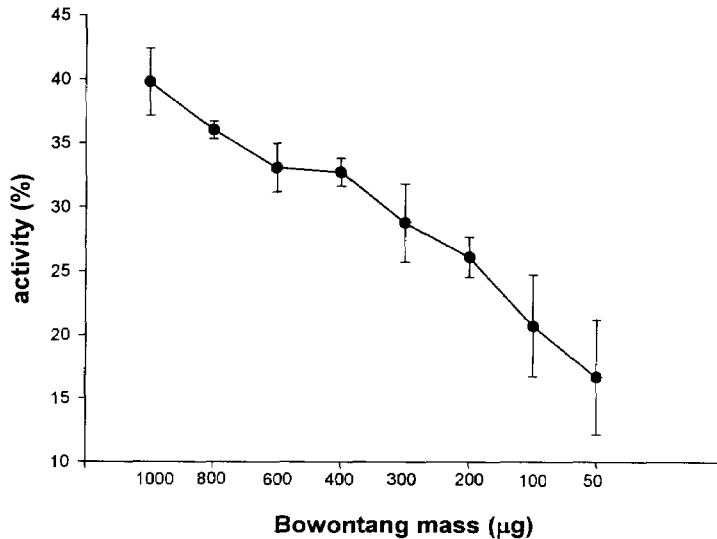


Fig. 2. Effect of the bowontang extract on DPPH radical scavenging activity.

2. 혈청중 GOT 및 GPT 활성 변화

혈청중 GOT 활성은 정상군이 39.83 ± 8.14 karmen unit/ml of serum 인데 비하여 각각의 실험동물을 CCl_4 로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 137.72 ± 18.76 karmen unit/ml of serum 로 약 4배 이상 증가하였으며, 약물투여군은 57.79 ± 8.58 karmen unit/ml of serum 로 활성이 감소하였다.(Table. II, Fig. 3). 혈청중

GPT 활성은 정상군이 13.34 ± 2.69 karmen unit/ml of serum 인데 비하여 독성유발 일주일 경과 후에는 대조군은 83.78 ± 8.82 karmen unit/ml of serum 로 약 4배 이상 증가하였으며 약물투여군은 40.26 ± 7.44 karmen unit/ml of serum 으로 약물투여군에 비해 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다(Table. III, Fig. 4).

Table II. Effect of the bowontang extract on the activity of serum GPT in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	Karmen unit / ml of serum
Normal	39.83 ± 8.14
Control	137.72 ± 18.76
Sample	57.79 ± 8.58

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , $0.6ml/kg$) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl_4 , $0.6ml/kg$) and fed the bowontang extract ($900mg/kg$) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

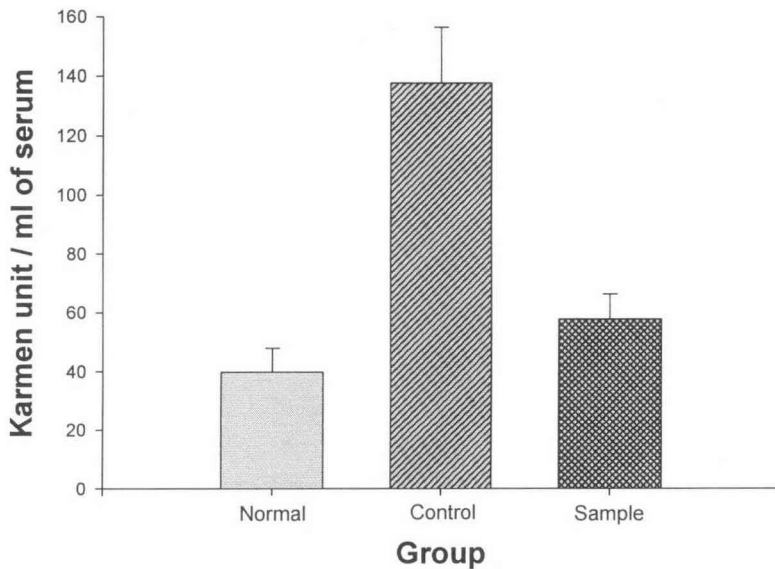


Fig. 3. Effect of the bowontang extract on the activity of serum GOT in carbon tetrachloride-treated mouse.

Table III. Effect of the bowontang extract on the activity of serum GPT in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	Karmen unit / ml of serum
Normal	13.34 ± 2.69
Control	83.78 ± 8.82
Sample	40.26 ± 7.44 **

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean ± S.E. of triplicate experiments.

** : P < 0.05 as compared with control group.

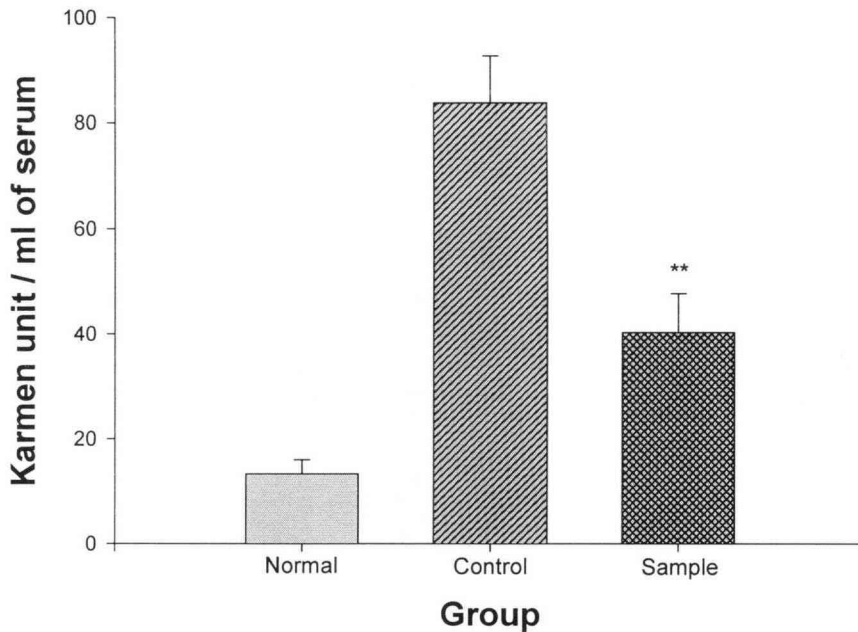


Fig. 4. Effect of the bowontang extract on the activity of serum GPT in carbon tetrachloride-treated mouse.

3. 혈청중 ALP 활성변화

혈청중 ALP 활성은 정상군은 30.64±5.69 King-Amstrong unit/dl of serum 인데 비하여 각각의 실험 동물을 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 88.85±10.27 King-Amstrong

unit/dl of serum 으로 약 2배 이상 증가하였으며, 약물투여군은 55.20±5.12 King-Amstrong unit/dl of serum 으로 대조군에 비해 감소하였다(Table IV, Fig. 5).

Table VI. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic glutathion in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	King-Amstrong unit / dl of serum
Normal	30.64±5.69
Control	88.85±10.27
Sample	55.20±5.12

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the Bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean±S.E. of triplicate experiments.

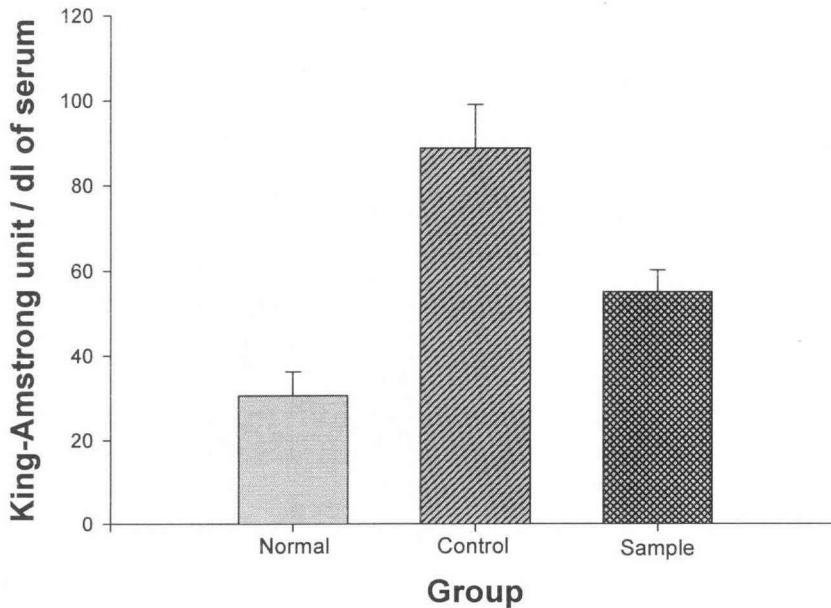


Fig. 5. Effect of the bowontang extract on the activity of serum ALP in carbon tetrachloride-treated mouse.

4. Lipid peroxide (LPO) 함량변화

간에서의 정상군의 과산화지질 함량은 8.31 ± 2.12 MDA nmole / mg of protein 인데 비해 각각의 실험 동물을 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 대조군은 31.70 ± 22.94 MDA nmole / mg of

protein 으로 약 4배정도 증가하였으나 약물투여군은 22.94 ± 3.55 MDA nmole / mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table V, Fig. 6).

Table V. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic lipid peroxide in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	MDA nmoles / mg of protein
Normal	8.31 ± 2.12
Control	31.70 ± 4.91
Sample	22.94 ± 3.55**

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean ± S.E. of triplicate experiments.

** : P < 0.05 as compared with control group.

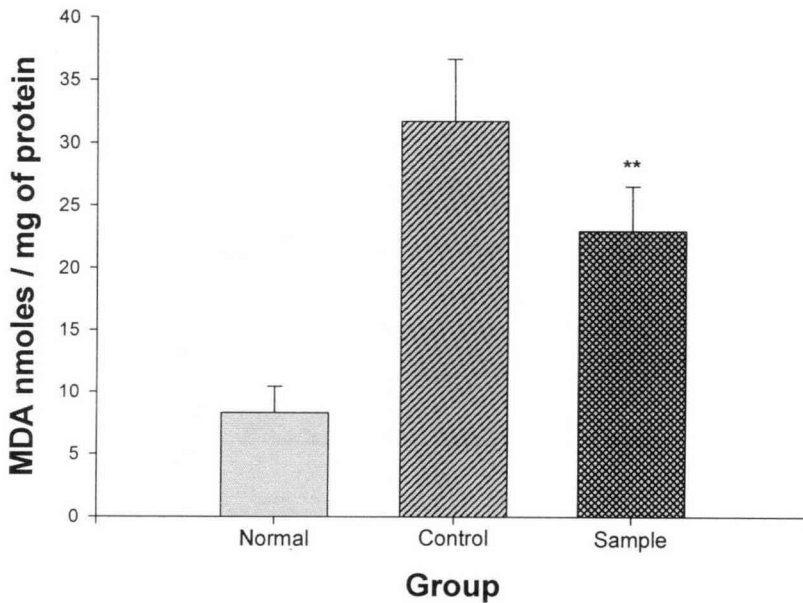


Fig. 6. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic lipid peroxide in carbon tetrachloride-treated mouse.

5. Glutathion (GSH)함량변화

간에서의 정상군의 GSH 함량은 4.65 ± 0.77 nmole / mg of protein 인데 비해 각각의 실험 동물을 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 대조군

은 1.98 ± 0.79 nmole / mg of protein 으로 감소하였으나 약물투여군은 3.39 ± 0.48 nmole / mg of protein 으로 대조군에 비해 유의성(p < 0.01)있게 증가하였다(Table VI, Fig. 7).

Table VI. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic glutathion in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	nmoles / mg of protein
Normal	4.65 ± 0.77
Control	1.98 ± 0.79
Sample	$3.39 \pm 0.48^{***}$

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean \pm S.E. of triplicate experiments.

*** : P < 0.01 as compared with control group.

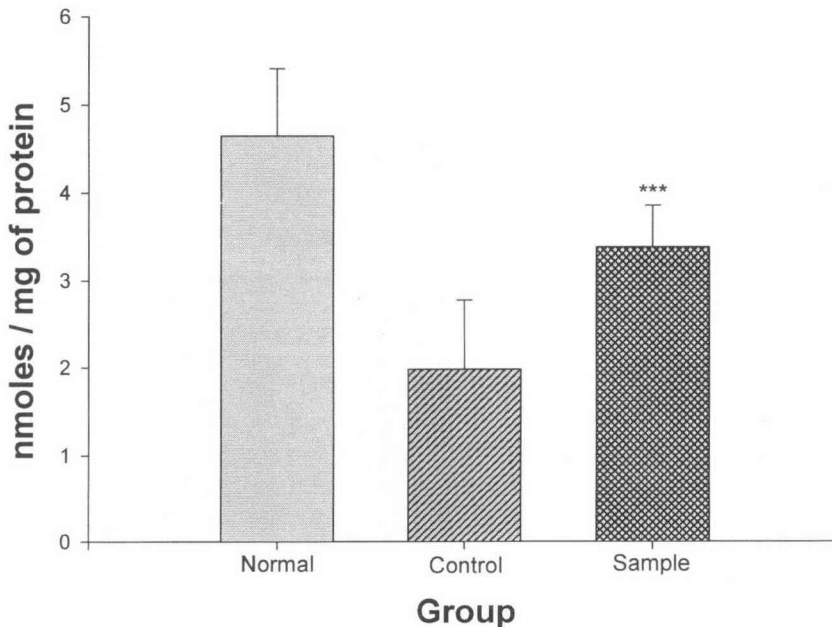


Fig. 7. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic in glutathion carbon tetrachloride-treated mouse.

6. Catalase 활성변화

간에서의 정상군의 catalase 함량은 13.83±2.29 units / mg of protein 인데 비해 각각의 실험 동물을 CCl₄로 간독성을 유발하였을 때 대조군은

8.00±0.88 unit / mg of protein 으로 감소하였으나 약물투여군은 12.54±2.22 units / mg of protein 대조군에 비해 유의성(p <0.05)있게 증가하였다(Table VII, Fig. 8).

Table VII. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic catalase in carbon tetrachloride-treated mouse

Group	units / mg of protein
Normal	13.83±2.29
Control	8.00±0.88
Sample	12.54±2.22**

Normal group was fed basal diet and water.

Control group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and basal diet for 2 weeks.

Sample group was injected carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

Each values are the mean±S.E. of triplicate experiments.

** : P <0.05 as compared with control group.

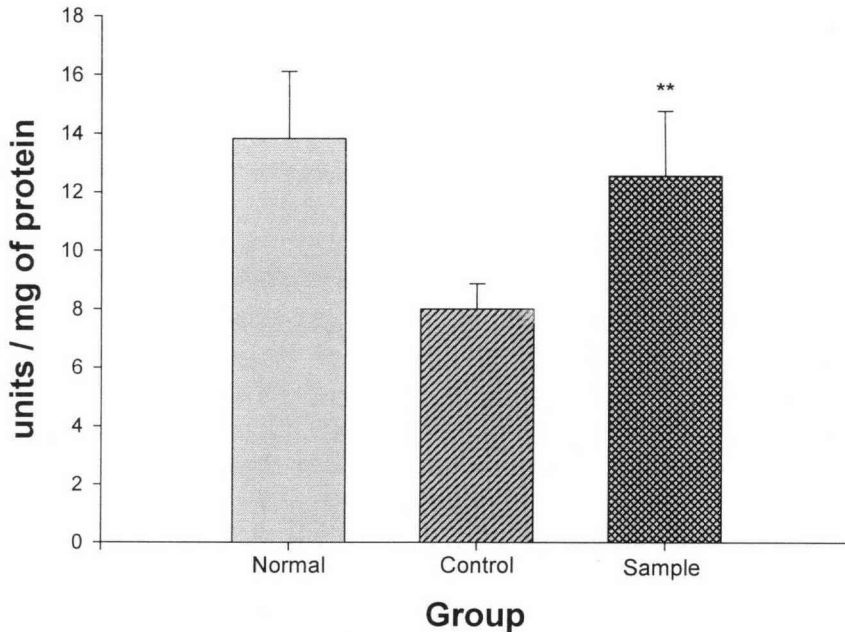


Fig. 8. Effect of the bowontang extract on the level of hepatic in catalase carbon tetrachloride-treated mouse.

IV. 考 察

保元湯은 明代 魏直¹⁾의 『博愛心鑑』에 처음으로 수록된 처방으로 李²⁾의 黃芪湯과 동일한 약물구성으로 주로 소아痘疹, 痘瘡, 慢驚風, 嬰兒驚怯^{1,2,3,4,5)} 등에 활용한다고 하였는데, 吳⁵⁾는痘疹이 陽虛頂陷, 血虛漿清, 皮薄發瘍, 難灌難斂한 것을 치료한다고 하였으며, 李²⁹⁾는 虛勞損怯, 元氣不足, 少氣畏寒, 倦怠乏力한 증상을 치료한다고 하여 元氣不足으로 인한 여러 질환에 유효함을 강조하였다.

따라서 保元湯은 小兒痘疹에 활용된 方劑이나 補氣溫陽의 功效가 있어 虛損勞怯과 元氣不足으로 倦怠懶力하고, 少氣畏寒한 증상 또는 소아의痘瘡이 陽虛로 頂陷하고, 血虛로 漿清하거나 不能發起, 灌漿하는 경우를 치료한다고 할수있다. 11,29,30,31,32)

保元湯의 약물구성을 살펴보면, 人蔘은 氣溫味甘微苦하여 脾, 肺, 心經에 入하여 大補元氣, 固脫生津, 安神益智의 효능으로 勞傷虛損, 食少, 倦怠, 驚悸, 陽痿, 消渴, 頻尿, 婦女崩漏, 小兒慢驚風, 一切氣血津液不足症에 응용하며, 黃芪는 性溫味甘하며, 肺, 脾經에 入하여 生用하면 表部に 작용이 강하여 益衛固表, 利水消腫, 托毒生肌의 효능으로 自汗, 血痺, 浮腫, 癰疽不潰, 潰久不斂에 활용하며, 灸用하면 裏部に 작용이 강하여 補中益氣의 효능으로 內傷勞倦, 脾虛泄瀉, 脫肛, 崩帶 및 모든 氣虛血虛한 증상에 활용한다. 甘草는 性平味甘하며, 心, 肺, 脾胃經에 入하여 和中緩急, 潤肺, 調和諸藥의 효능이 있으며, 灸用하면 脾胃虛弱, 食少, 腹痛便溏, 勞傷發熱, 肺痿咳嗽, 心悸, 驚癇 등에 응용하며, 生用하면 咽喉疼痛, 消化性潰瘍, 癰疽瘡瘍, 食物中毒에 활용한다고 하였다.^{6,7,9,13)}

이와 같이 保元湯은 人蔘, 黃芪, 甘草로 構成되어 전체적으로 藥性이 平溫無毒하며 甘微苦하며 心, 脾, 肺, 胃經에 入하여 補氣助元의 효능이 있으므로 元氣不足으로 인한 여러 질환에 활용할 수 있음을 알 수 있다.

歷代 諸家들의 保元湯 활용을 살펴보면 陳³³⁾은 痘癰에서 李²⁾의 黃芪湯과 같은 약물구성으

로 助脾建胃의 목적으로 활용하였으며, 龔³⁵⁾은 驚搐에 保元湯을 활용하였으며, 許³⁰⁾는 小兒痘疹에 활용하였다 한편 吳⁵⁾는 當歸, 白朮을, 陳³⁴⁾은 白朮을, 蔡^{4,37,38,39)} 등은 肉桂를 加하여 응용한 경우가 있다. 특히 李¹³⁾는 慢驚風에 脾氣가 肝氣를 犯함이 심하거나 瘡瘍으로 潰와 斂이 어려운 痘疹, 痘瘡, 痘癰에 활용하였으며, 吳⁵⁾는 男女 氣虛之總方이라고 하여 嬰兒驚怯과 痘疹이 氣虛한 경우에 가장 적합하다고 하였다. 또한 許³¹⁾는 保元湯을 補氣溫陽에 중점을 두어 소아의 元氣不足으로 인한 陽虛頂陷, 血虛漿清을 치료한다고 하였으며, 여기서 陽虛란 元氣不足을 말하며, 面色蒼白, 手足不溫, 容易汗出, 大便稀溏, 小便清白, 脣色淡白, 口淡無味, 舌質淡白, 白潤苔, 虛弱脈 등으로 나타난다고 하였다. 洪⁴⁰⁾은 本方을 虛損勞怯, 元氣不足, 痘瘡陽虛頂陷, 血虛漿清, 不能灌漿한 경우에 활용한다고 하였는데, 이는 補氣溫陽의 효능이 있기 때문이라고 하였다. 한편 張⁴⁾은 本方은 李東垣의 소아의 治驚之劑인 黃芪湯을 魏¹⁾가 小兒痘疹에 사용한 것으로 “小兒元氣未充最易傷殘用此保全”이라고 하였다.

임상적으로 保元湯은 補氣助元, 溫補氣虛의 효능으로 虛弱勞損, 元氣不足, 小兒出痘, 瘡痘頂陷한 증상에 활용되며, 王¹³⁾은 임상보고를 통하여 조혈세포 증식작용, 심박출량 증가, 혈액순환 개선작용, 실험적 독성 shock 예방작용이 있으며, 재생불량성 빈혈, 협심증, 심근경색, shock 등의 질환에 활용할 수 있다고 하였으며, 또 史⁴¹⁾에 의하면 脾肺氣虛에 해당되는 소화흡수, 호흡, 한선 및 면역기능의 저하와 더불어 말초 혈액순환 기능저하로 인한 폐기종, 중증빈혈 및 기타 만성질환과 신생 육아생성부전 등에 활용할 수 있다고 하였다. 한편 保元湯에 대한 실험적 연구로는 柳⁴²⁾의 세포대사 활성화를 통한 鷄胚의 세포분화 및 家兔의 瘡癰 치유를 촉진한다는 보고가 있을 뿐이다.

氣虛는 倦怠乏力, 語聲低微, 呼吸氣短, 自汗, 脈細軟無力 등으로 주로 元氣不足과 臟腑機能衰退 및 病邪를 防禦하는 機能低下 등의 病因으로 發生한다.¹⁴⁾ 임상에서 慢性肝炎, 動脈硬化症, 高血壓 등의 다수가 肝氣虛證의 범주에 속하며,

肝氣虛와 관련된 慢性肝炎은 右脇脹隱痛, 肝腫大質軟, 頭暈目眩, 精神不振, 易悲怯, 食欲不振, 舌淡苔薄, 脈細弱 등의 증후를 나타내며¹⁵⁾ 治療는 補肝氣하는 人蔘, 黃芪, 白朮 등을 주로 사용하고 있다.^{15,16)}

간손상을 일으키는 물질로는 carbon tetrachloride, chloroform, phosphorus, dimethyl nitrosamine, thioacetamide 등이 있으며 특히 사염화탄소는 전형적인 간손상을 일으키는 물질이며 혈청중 transaminase의 상승 등 각종 효소 활성에 변화를 초래하는데, 형태학적인 급성 변화로는 간세포의 종창, 지방성 혹은 소엽중심성 괴사 등이 일어나고⁴³⁾ 만성 변화로는 간경변증을 초래하는 것으로 알려져 있다. 사염화탄소의 간손상은 Glynn과 Himaworth⁴⁴⁾가 보고한 이래 간독성 물질의 표본으로서 수많은 연구가 진행되고 있다. 사염화탄소에 의한 간중독은 triglyceride의 축적에 의한 지방성간, Centrilobular necrosis 및 간세포의 organic transport system의 파괴 등을 들 수 있다. 사염화탄소에 의한 간손상의 기전은 아직 확실히 규명되지 않았으나 사염화탄소가 cytochrome p-450-dependent monooxygenase에 의해 대사되어 간의 microsome 약물대사효소인 mixed function oxidase system에 의해 일차적으로 산화반응을 거치는데 이 때 trichloromethyl radical의 생성이 촉진된다. 이 radical이 간 세포막의 다가 불포화 지방산을 공격하여 막의 투과성과 유동성을 변화시켜 파괴를 초래하며 또한 막을 구성하는 막단백질의 변성을 일으키므로 단백질의 고유한 생리기능을 차단하여 일련의 생화학적 반응을 저해하기 때문에 세포독성이 가중시키게 된다. 따라서 사염화탄소가 radical의 생성을 증가시킬수록 간독성의 유발 정도도 비례적으로 증가하게 된다고 하였다. 사염화탄소는 동물의 간에 대해 인간에서와 유사한 전형적인 간염을 일으키는 것으로서 실험적 간손상에 다용되어 왔다.

사염화탄소로 유도된 간중독 mouse에 보원탕 추출물을 투여하여 혈청과 조직중의 효소 활성 변화를 비교 관찰한 바는 다음과 같다.

GOT, GPT는 심장 간장질환의 경우 조직세포의 손상에 의하여 혈청중의 활성도가 증가된다. 따라서 급성간염 간경변등 간질환에 있어 진단 및 예후를 판단할 수 있다. 이들은 아미노산으로부터 아미노기를 알파케토산으로 전이시키는 전이효소로서 모두 간세포 중 세포질에 분포하고 있으며 조직에 장애가 생기면 혈액 중으로 다량 유출되기 때문에 혈청 효소 활성은 증가한다. 그러나 분자량이 크므로 조직에 현저하게 농도가 높고, 혈중으로도 유출이 쉬운 혈행 구조를 갖고 있는 심근, 간, 근육, 혈구에 장애가 있으면 혈청 효소 활성은 증가하지만 다른 장기에 손상이 있으면 거의 증가하지 않는다. 그러므로 간 기능 및 손상 정도를 측정하는 지표로 널리 이용되고 있다.⁴⁵⁾

혈청중 GOT, GPT 활성변화는 대조군이 정상군에 비해 약 4배 이상 증가하였으며 약물투여군에서는 대조군에 비해 효소 활성이 유의성 있게 감소하였음을 알 수 있었다.

ALP는 가수분해효소의 하나로서 세포 분획중 가용성 분획에 다량으로 분포되어 있으며 이 효소에는 isoenzyme이 존재하며 혈중 ALP의 활성은 isoenzyme의 총화이고 간염, 황달, 간경변, Paget병 등의 질환이 있을 때 혈중 ALP의 분포량이 증가된다고 알려져 있어 혈액중의 ALP 활성을 측정함으로써 간 기능 손상 여부를 알 수 있다.⁴⁶⁾

혈청중 ALP 활성변화는 대조군이 정상군에 비하여 약 2배 이상 증가하였으며 약물투여군에서는 감소하였다.

산소를 이용하는 생물체의 정상적인 대사과정에서 지속적으로 superoxide anion(O₂⁻), hydroxyl radical (OH)과 hydrogen peroxide (H₂O₂) 등 반응성이 큰 oxygen species가 생성된다는 증거들이 제시되었고⁴⁷⁾, 또한 radical에 의해 막성분인 인지질의 '불포화지방산에 의해 생성된 불안정한 지질과산화물들이 분해에 의해 이차적인 radical들을 생성할 수 있다.⁴⁸⁾ 생체내에는 이러한 radical들을 효과적으로 제어하기 위한 여러 효소들이 존재한다. 효소로는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione pero-

xidase 등이 있는데, SOD는 우선 O_2 를 H_2O_2 로 변환시키며 peroxisome의 catalase가 H_2O_2 를 무해한 물과 산소로 분해한다. Glutathione peroxidase 역시 H_2O_2 를 물로 변환시킨다.

생리조직중 과산화지질의 함량은 생화학적 조직 손상의 척도로 널리 이용되며 조직의 산화적 손상에 의해 야기되는 병리현상의 척도로도 활용되어 진다.⁴⁹⁾ 과산화 지질은 세포막의 지질성분이 독성물질들에 의해서 손상을 받게 되면 지질성분의 산화반응이 촉진되어 나타나는 반응산물이다.^{49,50)}

과산화지질의 함량은 대조군에서 약 4배 정도 증가하였으며 실험군에서는 유의성있게 감소하였다.

생체 내에서 생합성되어지는 tripeptide로서 구조가 단순하면서도 활발한 생리작용을 지니고 있는 glutathione은 간장에서 주로 생성되며 여러 장기에 널리 분포하는 해독물질이다.⁵¹⁾ Glutathione은 외부에서부터 유입되어 들어온 해독물질들과 쉽게 포함반응을 하여 체외로 배출시키는 생화학적 기능을 지니고 있으므로⁵²⁾ 조직중의 glutathione 함량을 측정함으로써 독성물질에 대한 생체의 방어능력을 간접적으로 측정할 수 있을 것이다.

조직중의 glutathione 함량은 대조군에서는 정상군에 비하여 감소하였으나 약물투여군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

세포내 존재하는 항산화 효소로 H_2O_2 를 분해하여 제거하는 작용을 가진 catalase⁵³⁾ 활성에 어떤 영향을 미치는 가를 조사한 결과 대조군에서는 정상군에 비하여 감소하였으나 약물투여군에서는 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 mouse에 CCl_4 를 투여하여 유도된 간손상으로 GOT, GPT, ALP 등의 효소 활성치의 상승이 나타났으며, 또한 과산화 지질의 함량을 증가시키며 이와 더불어 활성산소류의 생성을 증가시켜 분해계 효소인 glutathione, catalase의 활성을 감소시키는 것이 확인 되었다. 이에 비해 保元湯투여 약물투여군에서는 효소활성치 및

과산화 지질 함량의 유의성 있는 감소가 나타났으며, 분해계 효소인 glutathione, catalase의 유의성 있는 증가를 보였다. 따라서 CCl_4 로 유도된 간손상에 保元湯이 유효한 것으로 확인되었으며 이는 사염화탄소로 야기된 radical의 생성을 억제하는 것으로 추측할 수 있다. 앞으로 이에 대한 깊이 있는 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

CCl_4 로 유도된 간손상에 保元湯의 효능을 검증하기 위해 DPPH radical 소거효과, 간손상 mouse의 혈청 및 간조직 중에서 GOT, GPT, ALP 및 lipid peroxide (LPO), glutathione (GSH) 함량, catalase의 활성을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 保元湯 추출물은 지질과산화 반응에 주요원인이 되는 자유기에 대한 직접적인 소거능을 나타내었다.

2. 혈청중 GPT는 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 나타냈으며, GOT 와 ALP는 약물투여군이 대조군에 비해 활성이 감소하는 경향을 보였다.

3. LPO 함량은 약물투여군이 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.

4. GSH 함량 및 catalase 활성은 약물투여군이 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다.

이상의 결과로 CCl_4 로 유도된 mouse의 간손상에 保元湯이 유효한 것으로 확인되었으며 이는 사염화탄소로 야기된 radical의 생성을 억제하는 것으로 추측할 수 있으며 앞으로 이에 대한 심도 있는 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

VI. 參考文獻

1. 魏直 : 博愛心鑑, <古今名方>, 河南, 河南科學技術出版社, p. 466, 1983.
2. 李東垣 : 蘭室秘藏(II), 서울, 大暉文化社, p.16, 1983.
3. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.659, p.541, 1981.
4. 張介賓 : 景岳全書(下), 서울, 大星文化社, pp.785~786, 1988.
5. 吳謙 : 醫宗金鑑(中), 서울, 大星文化社, pp.38~39, 1991.
6. 강병수 외 : 本草學, 서울, 永林社, p531, p.534, p.540, 1971.
7. 黃宮綉 : 本草求真. 北京, 北京人民衛生出版社, pp3~5, p.15, 1987.
8. 林通國 : 實用臨床中藥指南, 四川, 四川科學技術出版社, pp.217~220, pp.222~224, pp.231~234, 1990.
9. 張隱庵 외 : 本草三家合註. 서울. 一中社. pp.9~13, 1994.
10. 陳維華 외 : 藥對論, 安徽, 安徽科學技術出版社, pp.203~204, 1984.
11. 朴宣東 외 : 方劑學, 서울, 永林社, p.277, 1999.
12. 白剛 외 : 中藥方劑學研究與應用大全, 北京, 中國科學技術出版社, pp.611~614, 1995.
13. 王潤生 외 : 中醫 復方研究和應用, 北京, 中國科學技術出版社, pp.276~279, 1993(2).
14. 金完熙 選編 : 한의학원론, 서울, 정보사, p.278, 1990.
15. 洪嘉禾 主編 : 實用中醫肝病學, 上海, 上海中醫藥大學出版社, pp.55~56, 1993.
16. 金秉雲 외 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫學研究院出版部, p.113, p.119, 1989.
17. 尹貞美 : 小柴胡湯 엑기스가 四鹽化炭素로 損傷시킨 Rats의 肝臟에 미치는 影響, 朝鮮大學校 碩士學位論文, 1984.
18. 崔銀朱 : 逍遙散, 加味逍遙散의 效能에 關한 實驗的 研究, 東義大學校 碩士學位論文, 1995.
19. 金聲東 : 茵陳蒿湯이 損傷肝 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校 碩士學位論文, 1992.
20. 李承雨 : 茵陳蒿湯의 藥針과 經口投與가 損傷肝에 미치는 影響의 比較研究, 慶山大學校 碩士學位論文, 1997.
21. Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T. : Two new flavonoids and other constituents in licorice root : their relative astringency and radical scavenging effects. Chem. Pharm.Bull(36): pp.2090~2097, 1988.
22. Retman, S. and Frankel, S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, Am. J. Clin. Patol., (28):pp.58~63, 1957.
23. Petkoba, J., Popova, N. and Kemileva, Z. Changes of enzyme activity in some organs following thymectomy, Agressologie., 14(5):pp.323~326, 1973.
24. Ohkwa, H., Ohishi, N., Yaki, K., Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, Anal Biochem., (95):pp.351~358, 1979.
25. Ellman, G. L., Tissue sulfhydryl group, Arch. Biochem. Biophys., (82):pp.70~77, 1959.
26. Aebi, H., In Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U. eds.), New York, Academic Press, pp.674~678, 1974.
27. Daniel M. Bollag, Stuart J. Edelstrein, Protein Method, New York, Wiley-liss, pp.56~59, 1991.
28. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. Protein measurement with folin phenol reagent, J. Biol. chem., 193:pp.265~75, 1951
29. 李惠德 외 : 湯頭起味速記法, 北京, 北京科學技術出版社, p.30, 1987.

30. 藏坤堂 외 : 中醫臨床方劑學, 北京, 人民軍醫出版社, p.109, 1996.
31. 許濟群 : 最新東洋醫學叢書(1), 서울, 陰陽脈診出版社, p.267, 1994.
32. 王子接 : 絳雪園古方選注, 北京, 中國中醫藥出版社, p.169, 1993.
33. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp.381~382, 1975.
34. 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, p.276, 1983.
35. 龔廷現 : 濟世全書, 臺北, 新文豐出版公史, p.779, 1981.
36. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.541, p.659, 1981.
37. 李尙仁 : 韓方臨床應用, 서울, 成輔社, p.233, 1982.
38. 楊蘊祥 : 古今名方, 河南, 河南科學技術出版社, p.466, 1983.
39. 琇若琴 : 臨證醫曲, 中華民國, 臺南東海出版社, p.147, 1977.
40. 洪文旭 외 : 方名釋義, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp.86~87, 1990.
41. 史蘭華 : 新編新增方劑學, 濟南, 濟南出版社, pp.147~148, 1989.
42. 柳盛植 : 保元湯煎湯液이 家兔의 損傷組織에 미치는 영향, 원광대학교 대학원 석사학위논문, 1989.
43. Ashburn, L. L., endicott, K M. Daft, F. S. and Little, R.D. : The nonportal distribution of the trabecule in dietary cirrhosis of mouse and huinea pigs. Am. J. Path. 23 : p.159, 1947.
44. Glynn, L. E. and Himsworth, H. P. : the intra cellular circulation in acute liver injury by carbon tetrachloride. clin. sci. 6 p.235, 1948.
45. Retman, S. and Frankel, S. A colorimetic method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, Am. J. Clin. Patol., (28):pp.58~63, 1957.
46. Higashi, T., Tateishi, N. and sakamoto, Y. Liver glutathione as areservior of L-cystine. In : Sulfur Amino Acids, : Biochemical and Clinical Aspects, Alan R. Liss, New York, pp.397~410, 1983.
47. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A., Phys.Rev., p.59, pp.527~605, 1979.
48. Cross, E.C., Halliwell, B., Borish, E.T., Pryor, W.A., Ames, B.N., Saul, R.L., Mccord, J.M. and Harman, L., Ann. Intern. Med., p.197, pp.526~545, 1987.
49. David, R. : Mechanistic toxicology : A radical perspective. J.P harm. pharmacol., p. 41, pp.505~511, 1989.
50. Barry, H. : Oxidants and human disease : Some new concepts, FASEB. J., p.1, 358~364, 1987.
51. Boyland, E. and Chasseud, L. F. : The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. ADV. Enzymol., 32 :pp.173~219, 1969.
52. Ross, D. : Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents : mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. Pharmacol. Ther., 37(2):pp.231~239, 1988.
53. Ross D and Moldeus P : Antioxidant defence systems and oxidative stress. In: Membrane Lipid Oxidation, ed. by Vigo-Pelfrey C., Vol II, CRC Press, Boston, pp.151~170, 1993.

= Abstract =

Effect of Bowontang on Mouse Hepatotoxicity Induced by Carbon tetrachloride

Jong-Huem Park · Sun-Dong Park · Won-Hwan Park¹⁾

Department of Prescription,

¹⁾Department of Diagnostics, College of Oriental Medicine, Dongguk University

The purpose of this study is to investigate the effects of bowontang on serum reactions of CCl₄- treated mouse. In this study, the experimental mouse were divided into three groups, normal, control, and sample.

Under the same condition, the normal group was fed basal diet and water, the control group was injected with carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed a basal diet for 2 weeks, and the sample group was injected with carbon tetrachloride (CCl₄, 0.6ml/kg) and fed the bowontang extract (900mg/kg) for 2 weeks.

It was shown that scavenging effect on DPPH radical was depended on concentration of the bowontang. And activities of GOT, GPT and ALP in blood serum of the sample group were significantly decreased as compared with the control group, respectively. Also, activities of LPO, GSH and catalase in the liver were significantly changed in experimental mice. In the liver of the sample groups, the activity of LPO was decreased as compared with control group, while activities of GSH and Catalase were significantly increased.

Key words : Hepatotoxicity, Bowontang, Carbon tetrachloride