

瀉青丸과 그 構成藥物群이 acetaminophen으로 유도된 백서의 간독성에 미치는 影響

李在殷, 朴宣東

동국대학교 한의과대학 방제학교실

Abstract

Effect of *Sachungwhan* and its components on acetaminophen induced hepatotoxicity in rats.

Lee Jae-Eun, Park Sun-Dong

Department of Oriental Medicine Prescription Dongguk University

Liver is an important target of the toxicity of drugs, xenobiotics and oxidative stress. Acetaminophen pverdose causes acute liver injury in both humans and animals. This study was performed to observe the effect of *sachunwhan* and its component groups on recovery of hepatotoxicity in acetaminophen treated rats. The experimental group was divided into 4 groups: sachungwhan(SC), samultang group(SC-1: 當歸, 川芎), chungyul group(SC-2: 龍膽草, 大黃, 梔子), and haepyo group(SC-3: 羌活, 防風). Under the same condition Normal group was fed basal diet and water; Control group was injected acetaminophen and fed basal diet for 2 weeks; Experimental groups were injected acetaminophen and fed each extracts for 2 weeks respectively.

The results were obtained as follows:

1. In the study on antioxidative defense system in vivo, SC reduced the amount of

교신저자 : 박선동

경북대학교 한의과대학 방제학교실

Tel : 054) 770-2371

E-mail : sundong@dongguk.ac.kr

접수 : 2003/5/30

수정 : 2003/5/30

채택 : 2003/6/23

lipid peroxide in both serum and liver and showed activity on antioxidative enzymes such as catalase, glutathion. Other groups had effect only on glutathion.

2. In the study on hepatotoxicity(GOT, GPT, γ -GTP, ALP, LDH, Bilirubin), SC had a significant effect on recovery of hepatotoxicity in acetaminophen treated rats. Other groups had no effect except SC-1 having effect on γ -GTP.

As results shown, only Sachungwhan(SC) has significant effects on recovery of hepatotoxicity and antioxidative defense system in vivo. These results suggest that Sachungwhan(SC) made antioxidative defense system active and it seemed to be very important to its effect on recovery of hepatotoxicity. In the other hand, Component groups had no effect on recovery of hepatotoxicity and antioxidative defense system in vivo. This was thought that component drugs' cooperative synergy effect would be important to Sachungwhan(SC)'s effects mentioned in this paper.

Key Word : Sachungwhan, acetaminophen, hepatotoxicity

I. 緒 論

肝은 소화 흡수된 음식물, 약물 및 기타 여러 외부물질들이 체내에 들어와 반드시 거치는 기관으로, 모든 외부에서 들어온 물질들이 肝에서 기본적인 대사관계를 밟아 정리 축적되거나 재분배되므로, 다른 여러 장기들의 대사기능과 연관하여 이를 총괄하여 주는 기능을 수행한다.¹⁾ 한의학에서 肝의 기능은 주로 肝藏血 및 肝主疏泄의 기능으로 표현되고 있으며, 간기능의 失調는 人體의 精神意志活動, 氣血運行, 飲食消化·吸收·排泄, 津液의 宣發·輸布活動, 組織의 營養供給 등 氣血과 관련된 다양한 질환을 유발한다고 설명하고 있다.²⁾

최근 肝疾患에 대한 診斷과 技術의 비약적인 발전에도 불구하고 治療方法論에서는

그 해결이 모호한 상태에 직면해 있는데, 이를 극복하기 위하여 실험적으로 肝中毒을 유발시킨 동물에 약물을 투여하여 그 藥效를 입증하려는 노력이 진행되고 있으며, 그 有效性이 다양하게 보고된 바 있다.³⁾

瀉青丸은 錢乙의 『小兒藥證直訣·卷下』⁴⁾에서 출전하는 처방으로 원문에는 瀉青圓方이란 처방명으로 기재되어 있는데, 약물구성을 보면 當歸, 龍膽草, 川芎, 梔子, 大黃, 羌活, 防風의 7味로 구성되고, 肝熱性 痙攣을 치료하는 처방으로 소개되어 있다. 瀉青丸은 痙攣 뿐 아니라 肝의 實熱로 인한 諸證을 치료하므로 肝經鬱火로 인한 目赤腫痛, 煩躁易怒, 尿赤便秘 및 小兒急驚, 熱性痙攣 등을 치료하는 처방이다.⁵⁻⁶⁾

이와 같이 瀉青丸은 肝熱證치료에 응용하는 처방으로서 간 손상에 대해 일정한 회복능력이 있을 것으로 사료되었는데, 瀉青丸 구성약물들에 대한 실험연구보고에 의하면 구성약물들 중 龍膽草, 大黃, 梔子, 當歸 등이 자유기(free radical)에 의한 실험적 간손상에 일정한 회복능력이 있는 것으로 보고되고 있다.⁷⁻⁸⁾ 瀉青丸에 관한 실험논문에는 Thiocacetamine에 의한 백서 간손상에 미치는 영향⁹⁾, 소아성질환에 진통, 진경, 해열작용에 미치는 영향¹⁰⁾, 항경련작용에 관한 실험적 연구¹¹⁾ 등이 있었지만, 아직 瀉青丸의 간손상에 대한 회복능력과 항산화작용과의 관련성에 대한 실험논문이 없었다. 이에 저자는 瀉青丸의 간손상에 대한 회복능력과 항산화효과, 그리고 瀉青丸의 작용에 중요한 역할을 하는 약물군을 알아보고자 백서에 acetaminophen을 주사하여 간독성을 유발한 다음 瀉青丸과 그 구성약물군들-四物湯藥物群(當歸, 川芎), 清熱藥物群(龍膽草, 大黃, 梔子), 그리고 解表藥物群(羌活, 防風)-을 각각 투여하여 각 약물군들의 간독성에 미치는 효과와 항산화효과를 실험관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 약재

본 실험에 사용한 藥材는 동국대학교 부속한방병원에서 구입하였으며, 瀉青丸은 『小兒藥證直訣』⁴⁾에 의거하여 처방을 구성하였고, 한 貼의 분량은 Table 1 과 같다.

2) 動物

실험동물은 건강한 체중 200g 내외의 Sprague-Dawley계 수컷 rat로 7일간 사육실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육실 온도는 20°C 내외, 습도는 55~60%로 유지하고 light-dark cycle이 12시간 단위로 조절되게 한 후, rat용 교형 사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

3) 試藥 및 器機

acetaminophen은 Sigma사에서 구입하였으며 glutamate oxaloacetate transaminase (GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase (GPT) 측정용 kit, γ -glutamyl-1 transpeptidase (γ -GPT) 측정

Table 1. Composition and contents of Sachunghwan

韓藥名	生藥學名	藥量
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	6 g
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	6 g
龍膽草	<i>Gentianae Radix</i>	6 g
梔子	<i>Gardeniae Fructus</i>	6 g
大黃	<i>Rhei Radix et Rhizoma</i>	6 g
羌活	<i>Notopterygii Rhizoma</i>	6 g
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	6 g
Total amounts		42 g

Table 2. Composition and contents of Experimental Groups

實驗群	構成藥物	抽出量	收得率
瀉靑丸(SC)	當歸, 川芎, 龍膽草, 梔子, 大黃, 羌活, 防風 各 60g	126.77g	30.18%
四物湯藥物群(SC-1)	當歸, 川芎 各 200 g	123.65g	30.91%
清熱藥物群(SC-2)	龍膽草, 大黃, 梔子 各 150 g	96.56g	21.45%
解表藥物群(SC-3)	羌活, 防風 各 200 g	85.24g	21.31%

용 kit, alkaline phosphatase (ALP) 측정용 kit, lactate dehydrogenase (LDH) 측정용 kit, bilirubin 측정용 kit는 아산제약에서 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 기기는 UV-VIS spectrophotometer (UV-2401PC SHIMADZU Co.)를 사용하였고, 그 외 실험에 사용한 모든 시약들은 시중에서 특급품을 구입하여 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 조제

瀉靑丸 및 그 構成藥物群에 3배량의 80% methanol을 가한 다음 48 시간 동안 추출하고, 이 과정을 2회 반복하여 여과한 후 농축하고 동결 건조하여 얻은 抽出量 및 收得率은 Table 2와 같다.

2) 실험군의 분류 및 처치

실험동물은 각 군당 8마리씩 6개의 군으로 나누었고, 모든 실험동물은 실험 전 7일간 rat용 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였다.

정상군은 실험적 처치를 하지 않은 정상상태로 rat용 고형사료와 물을 10일간 제한 없이 공급하였고, 대조군은 acetaminophen 500 mg/kg/DMSO를 복강 주사한 후 rat용 고형사료와 물을 10일간 제한 없이 공급하였다.

실험군은 處方群으로서 瀉靑丸(SC), 四物湯藥物群(SC-1: 當歸, 川芎), 清熱藥物群(SC-2: 龍膽草, 大黃, 梔子), 그리고 解表藥物群(SC-3: 羌活, 防風)의 4가지 약물군으로 나누고, 각 군 모두 acetaminophen을 복강 주사한 후 rat용 고형사료와 각 추출물 500 mg/kg/H₂O 씩을 10일간 음용시켰다.

모든 실험 동물은 생체시료 채취 전 18시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

3) 생체 시료의 제조

실험동물을 ether로 마취시킨 다음 복부 정중선을 따라 개복하여 심장에서 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 실온에서 1시간 동안 방치한 다음 혈청을 분리하여 측정 효소원으로 사용하였다. 간장은 조직이 손상되지 않도록 천천히 간문맥에 생리 식염수를 관류시켜 혈액을 충분히 제거한 후, 간장을 채취하여 생리 식염수로 잘 씻어내어 Whatman 여과지로 식염수를 제거한 후 -70℃에 동결 보존하여 사용하였다. 효소 활성도 측정을 위해 간장 조직의 일부에 4배 용량의 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.5)를 가하여 빙냉하에서 homogenizer로 4분간 균질화하였다. 이 균질액을 110×g에서 15분간 원심분리하여 일부 상층액은 과산화지질 및 glutathione 함량을 측정하기 위한 시료로 사용하였고, 나머지 상층액은 600×g에서 다시 15분간 원

심분리하여 핵과 세포잔해를 제거한 상층액을 취하였으며, 이를 다시 12,000×g에서 30분 동안 원심분리하여 미토콘드리아를 제거한 상층액을 취하여 catalase, glutathione-s-transferase 활성도 측정을 위한 시료로 사용하였다. 상기 모든 조작은 특별한 규정이 없는 한 0~4°C에서 실시하였다.

5) 항산화 효과 측정

(1) 혈청중 lipid peroxide 함량

TBA측정은 Suematsu 등의 방법¹⁷⁾에 따라 clean test tube에 혈청 200 μ l를 넣고, 8.1% sodium dodecyl sulfate(SDS) solution 225 μ l, 20% acetic acid 1.5 ml, 증류수 75 μ l, 1.2% thiobarbituric acid solution 1 ml를 넣고 잘 섞어준 후 30분간 water bath에서 끓였다. 이후 실온에서 30분간 cooling하고 3000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 532 nm에서 측정하였다.

(2) 간에서의 lipid peroxide 함량

조직내 LPO함량 측정은 Ohkawa 등의 방법¹⁸⁾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 가해 95°C에서 1시간 동안 반응시키고 실온으로 냉각한 다음 생성된 홍색의 TBA reactive substance를 n-butanol : pyridine (15:1) 혼합액으로 이행시켜 파장 532 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 정량하였다. 생성된 시료의 malondialdehyde(MDA) 농도는 free MDA로 표준선을 구하여 계산하였으며 MDA함량은 조직 mg당 nmole로 나타내었다.

(3) 간에서의 catalase 활성

조직내 catalase 활성도는 Aebi의 방법¹⁹⁾에 따라 측정하였다. 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 효소원 일정량을 넣고 기질로서 10 mM H₂O₂ 용액을 가하여 파장 240 nm에서 흡광도의 변화를 2분간 측정하였다. 대조실험으로는 기질인 10 mM H₂O₂ 용액 대신에 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 가해 다른 조건은 위와 동일하게 하여 흡광도의 변화를 측정하였으며 효소의 활성도는 1분 동안에 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 하였다.

(4) 간에서의 glutathione 함량

조직내 GSH 함량 측정은 Ellman 등의 방법²⁰⁾에 따랐다. 조직 균질액을 1,000×g에서 원심분리한 후 상층액에 4% sulfosalicylic acid를 가하여 혼합한 후 1000×g에서 10분간 원심분리하고 상층액을 취하여 1 mM DTNB 용액과 혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 412 nm에서 흡광도를 측정하였으며 GSH 함량은 protein 1 mg 당 nmole로 나타내었다.

(5) 간에서의 glutathione-s-transferase 활성

간 조직내 GST 활성은 chlorodinitrobenzene(CDNB)과 GSH를 기질로 사용한 Habig의 방법²¹⁾으로 측정하였다. 0.1M potassium phosphate 완충용액(pH 6.5)으로 희석시킨 간 부유액에 1 mM GSH, 1 mM CDNB를 첨가하여 파장 340 nm에서 단백질 mg당 1분간 conjugated되는 CDNB의 nmole로 표기하였다.

4) 효소 활성의 측정

(1) 혈청중 GOT 활성 측정

혈청중 GOT 활성은 Reitman-Frankel의 방법¹²⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. GOT 기질액 1.0 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2 ml를 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 60분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0 ml를 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4N NaOH 용액 10 ml를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505 nm에서 증류수를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 GOT 활성도는 작성한 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1 ml당 karmen unit로 나타내었다.

(2) 혈청중 GPT 활성 측정

혈청중 GPT 활성은 Reitman-Frankel의 방법¹²⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. GPT 기질액 1.0 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.2 ml를 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 30분간 반응시킨 뒤 정색시액 1.0 ml를 첨가하여 잘 혼합하여 실온에서 20분간 방치하여 반응을 종료시키고, 0.4N NaOH 용액 10 ml를 가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 약 10분간 방치하였다가 60분 이내에 505 nm에서 증류수를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 GPT의 활성도는 작성한 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1 ml당 karmen unit로 나타내었다.

(3) 혈청중 γ -GTP 활성 측정

혈청중 γ -GTP 활성은 5-Aminosalicylic acid¹³⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여

측정하였다. γ -GTP 기질액 1.0 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 혈청 0.02 ml를 넣어 잘 혼합한 후 37°C에서 정확히 20분간 방치한 후 정색 시액 3.0 ml를 잘 섞어준 후 실온에 20분간 방치하였다가 60분 이내에 635 nm에서 시약 블랭크를 대조로 흡광도를 측정하였다. 혈청중 γ -GTP 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 mU/ml로 나타내었다.

(4) 혈청중 ALP 활성 측정

혈청중 ALP 활성은 Kind-King 등의 방법¹⁴⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. 기질액 2.0 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 후 여기에 혈청 0.05 ml를 가하여 잘 혼합하여 37°C에서 정확히 15분간 반응 시켰다. 정색시액 2.0 ml를 넣고 충분히 혼합한 후 실온에서 10분 이상 방치시키고 60분 이내에 500nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 ALP의 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 혈청 1 ml당 King-Amstrong unit로 나타내었다.

(5) 혈청중 LDH 활성 측정

혈청중 LDH 활성은 효소법¹⁵⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. 기질액 0.5 ml과 정색시액 0.5 ml를 시험관에 가하여 37°C에서 5분간 방치한 다음 증류수로 5배 희석한 혈청 0.05 ml를 가하여 잘 혼합하여 37°C에서 정확히 10분간 반응 시켰다. 희석 반응 정지액 3.0 ml를 넣고 충분히 혼합한 후 60분 이내에 570 nm에서 시약블랭크를 대조로 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 LDH의 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 Wroblewski unit로 나타내었다.

(6) 혈청중 Bilirubin 함량 측정

혈청중 Bilirubin 활성은 Michaelsson의 방법¹⁶⁾에 따라 조제된 시약 kit를 사용하여 측정하였다. 혈청 0.1 ml, 다이피린시액 1.0 ml과 디아조시액 1.0 ml를 시험관에 가하여 잘 혼합하여 10분간 실온에 방치한 후 페링 시액 1.0 ml를 넣고 충분히 혼합하고 2시간 이내에 시약 블랭크를 대조로 600 nm 파장에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 혈청중 Bilirubin의 활성도는 표준 검량 곡선에서 산출하였으며 mg/dl로 나타내었다.

(7) 단백질 정량

단백질의 정량은 Lowry 등의 방법²²⁻²³⁾에 따라 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 단백질을 정량하였다.

6) 통계 처리

실험 결과의 유의성 검증은 Sigma Plot

2001(Window용, version 7.0)을 이용하여 unpaired *t-test*를 실시하였다.

III. 實驗 成績

1. 항산화 효과

1) 혈청중 lipid peroxide 함량에 미치는 영향
혈청에서의 정상군의 MDA 함량은 2.08 ± 0.32 MDA nmole/ml 인데 비해 대조군은 7.36 ± 1.78 MDA nmole/ml 으로 정상군에 비해 3배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 5.51 ± 1.33 MDA nmole/ml, 四物湯藥物群 7.08 ± 1.36 MDA nmole/ml, 淸熱藥物群 7.53 ± 1.07 MDA nmole/ml, 解表藥物群 7.44 ± 0.88 MDA nmole/ml로 瀉靑丸만 유의성($p < 0.01$) 있게 감소하였다(Fig. 1).

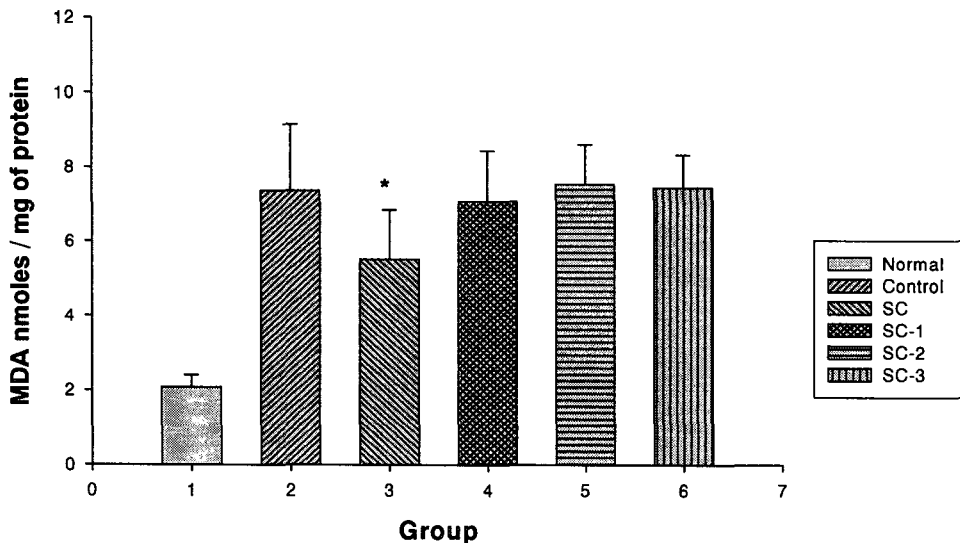


Fig. 1. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyu group(SC-2) and Haepyo grup(SC-3) extracts on the level of serum lipid peroxide in alloxan-treated rat

* : $p < 0.05$ as compared with control group.

2) 간에서의 lipid peroxide 함량에 미치는 영향

간에서의 과산화지질 함량을 보면 정상군에서의 함량은 10.71 ± 1.61 MDA nmole/mg 인데 비해 대조군은 34.31 ± 5.30 MDA nmole/mg 으로 3배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 24.03 ± 5.65 MDA nmole/ml, 四物湯藥物群 32.56 ± 4.91 MDA nmole/ml, 淸熱藥物群 31.93 ± 8.69 MDA nmole/ml, 解表藥物群 33.10 ± 7.12 MDA nmole/ml로 瀉靑丸만 매우 유의성($p < 0.01$) 있게 감소하였다(Fig. 2).

3) 간에서의 catalase 활성에 미치는 영향

간에서의 정상군의 catalase 활성은 11.12 ± 1.29 units/mg인데 비해 대조군은 6.40 ± 1.46 unit/mg으로 활성이 감소하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 8.78 ± 1.29 units/mg, 四物湯藥物群 7.15 ± 0.85 units/mg, 淸熱藥物群 6.69 ± 0.75 units/mg, 解表藥物群 6.94 ± 0.98 units/mg으로 瀉靑丸만 매우 유의성($p < 0.01$) 있게 증가하였다(Fig. 16).

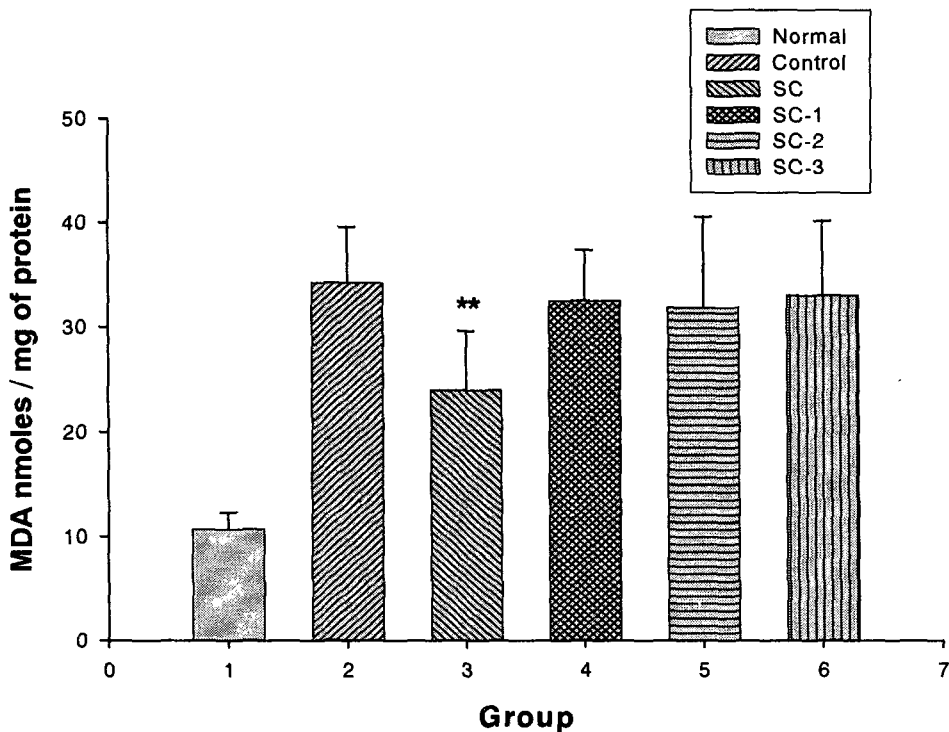


Fig. 2. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyul group(SC-2) and Haepyo grup(SC-3) extracts on the level of serum lipid peroxide in alloxan-treated rat

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

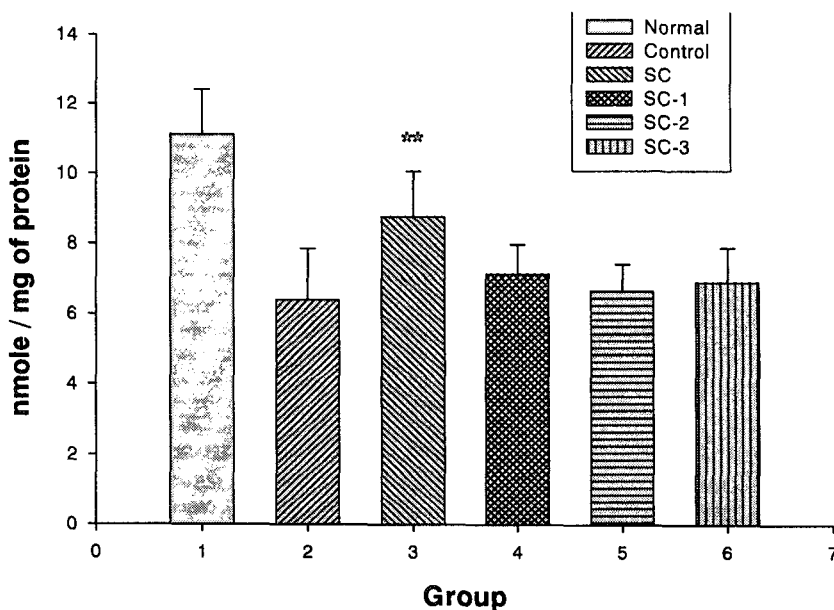


Fig. 3. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyul group(SC-2) and Haepyo grup(SC-3) extracts on the level of hepatic catalase in alloxan-treated rat

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

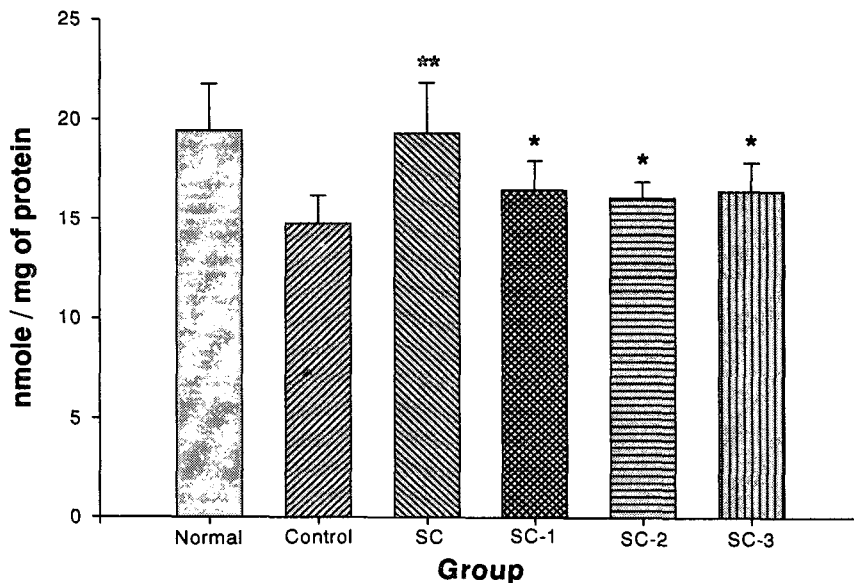


Fig. 4. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyul group(SC-2) and Haepyo grup(SC-3) extracts on the level of hepatic glutathione in alloxan-treated rat

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

* : $p < 0.05$ as compared with control group.

4) 간에서의 glutathione 함량에 미치는 영향

간에서의 정상군의 GSH 함량은 19.46 ± 2.32 nmole/mg인데 비해 대조군은 14.78 ± 1.45 nmole/mg으로 활성이 감소하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 19.34 ± 2.51 nmole/mg, 四物湯藥物群 16.52 ± 1.44 nmole/mg, 淸熱藥物群 16.14 ± 0.76 nmole/mg, 解表藥物群 16.46 ± 1.41 nmole/mg으로 瀉靑丸은 매우 유의성($p < 0.01$) 있게 증가하였고, 다른 군들도 모두 유의성($p < 0.05$)있게 증가하였다(Fig. 4).

5) 간에서의 glutathione-s-transferase 활성에 미치는 영향

간에서의 정상군의 glutathione-s-transferase 활성은 2.42 ± 0.17 nmole/mg인데 비해 대조군은 3.64 ± 0.61 nmole/mg으로 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 2.98 ± 0.50 nmole/mg, 四物湯藥物群 3.42 ± 0.28 nmole/mg, 淸熱藥物群 3.63 ± 0.49 nmole/mg, 解表藥物群 3.45 ± 0.42 nmole/mg으로 瀉靑丸만 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다(Fig. 5).

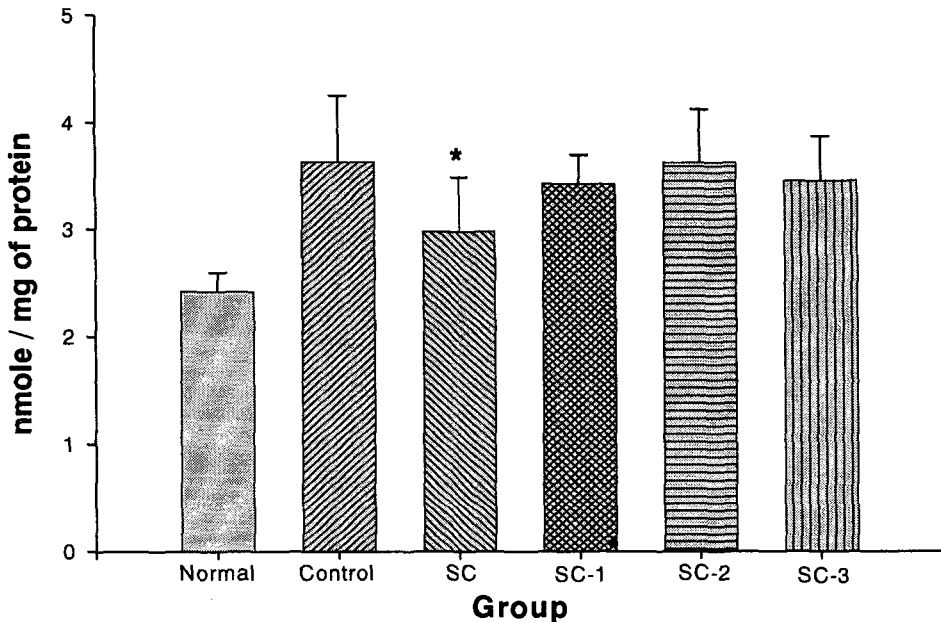


Fig. 5. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyul group(SC-2) and Haepyo group(SC-3) extracts on the level of hepatic glutathione-s-transferase in alloxan-treated rat

* : $p < 0.05$ as compared with control group.

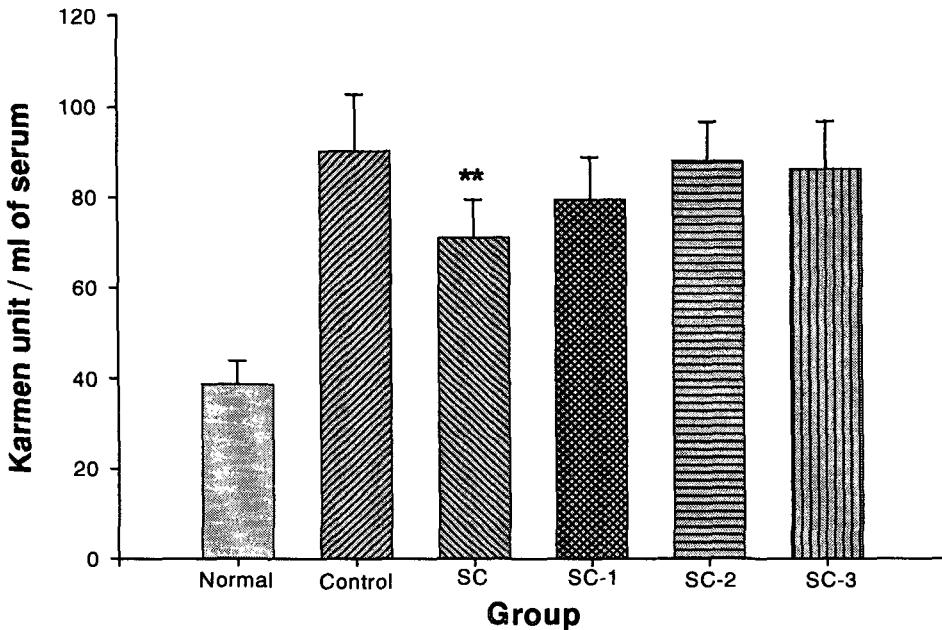
2. 간관련 혈청조성변화

1) GOT 활성에 미치는 영향

정상군에서는 38.79±5.05 Karmen unit/ml of serum인데 비하여 대조군은 90.19±12.47 Karmen unit/ml of serum으로 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸 71.11±8.34 Karmen unit/ml of serum, 四物湯藥物群 79.44±9.35 Karmen unit/ml of serum, 清熱藥物群 88.00±8.49 Karmen unit/ml of serum, 解表藥物群 86.17±10.48 Karmen unit/ml of serum으로 瀉青丸만 매우 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다(Fig. 6).

2) GPT 활성에 미치는 영향

정상군에서는 20.04±5.17 Karmen unit/ml of serum인데 비하여 대조군은 50.63±6.97 Karmen unit/ml of serum로 2배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸 35.33±5.08 Karmen unit/ml of serum, 四物湯藥物群 43.10±8.61 Karmen unit/ml of serum, 清熱藥物群 43.82±6.57 Karmen unit/ml of serum, 解表藥物群 48.31±9.61 Karmen unit/ml of serum으로 瀉青丸만 매우 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다(Fig. 7).



· Fig. 6. Effect of the Sachungwhan(SC), Samultang group(SC-1), Chungyul group(SC-2) and Haepyo grup(SC-3) extracts on the activity of serum GOT in acetaminophen-treated rat.

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

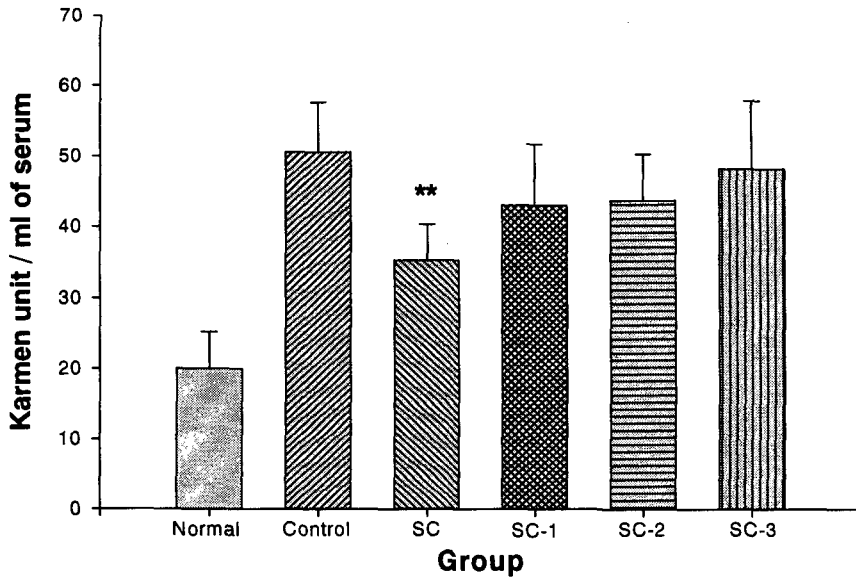


Fig. 7. Effect of the *Sachungwhan*(SC), *Samultang* group(SC-1), *Chungyul* group(SC-2) and *Haepyo* grup(SC-3) extracts on the activity of serum GPT in acetaminophen- treated rat.

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

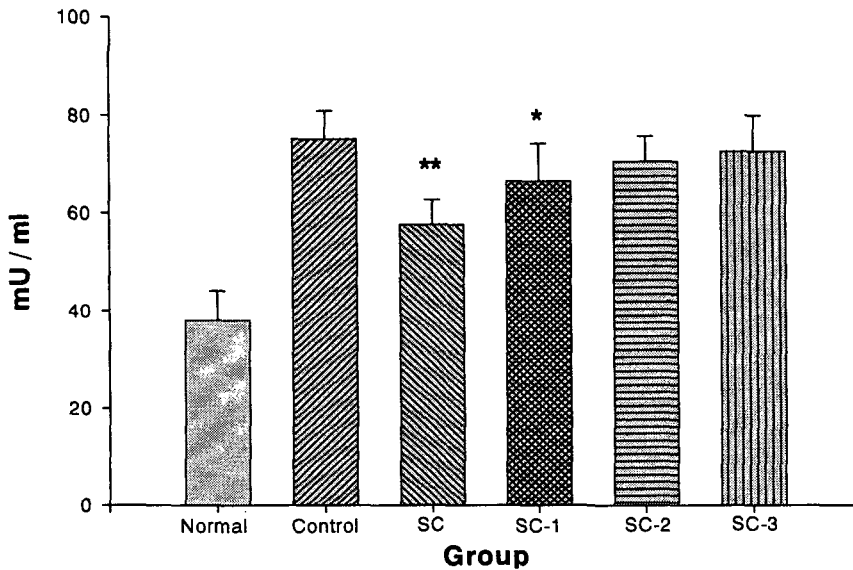


Fig. 8. Effect of the *Sachungwhan*(SC), *Samultang* group(SC-1), *Chungyul* group(SC-2) and *Haepyo* grup(SC-3) extracts on the activity of serum γ -GTP in acetaminophen- treated rat.

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

* : $p < 0.05$ as compared with control group.

3) γ -GTP 활성에 미치는 영향

정상군에서는 37.99±5.99 mU/ml 인데 비하여, 대조군은 75.26±5.71 mU/ml으로 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸 57.69±5.00 mU/ml, 四物湯藥物群 66.52±7.80 mU/ml, 淸熱藥物群 70.71±5.15 mU/ml, 解表藥物群 72.78±7.27 mU/ml으로 瀉青丸이 매우 유의성(p<0.01) 있게 감소하였고, 사물탕약물군도 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다(Fig. 8).

unit/ dl of serum인데 비하여, 대조군은 72.29±8.13 King-Amstrong unit/ dl of serum으로 2배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸 56.55±6.37 King-Amstrong unit/ dl of serum, 四物湯藥物群 69.18±6.77 King-Amstrong unit/ dl of serum, 淸熱藥物群 72.02±7.45 King-Amstrong unit/ dl of serum, 解表藥物群 71.46±8.13 King-Amstrong unit/ dl of serum으로 瀉青丸만 매우 유의성(p<0.01) 있게 감소하였다(Fig. 9).

4) ALP 활성에 미치는 영향

정상군에서는 29.54±6.01 King-Amstrong

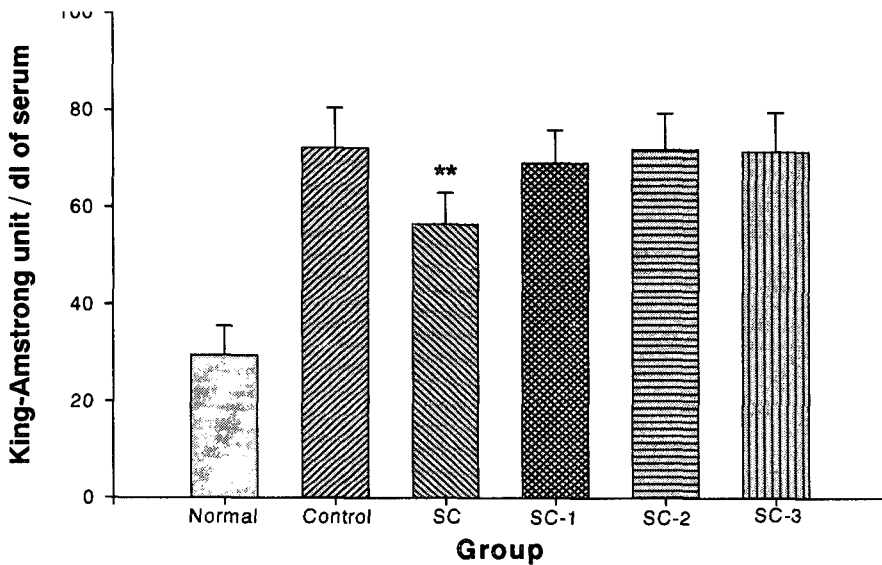


Fig. 9. Effect of the *Sachungwhan*(SC), *Samultang* group(SC-1), *Chungyu* group(SC-2) and *Haepyo* grup(SC-3) extracts on the activity of serum ALP in acetaminophen -treated rat.

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

5) LDH 활성에 미치는 영향

정상군에서는 709.46 ± 40.17 wroblewski unit 인데 비해, 대조군은 1206.31 ± 99.37 wroblewski unit으로 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 1017.59 ± 159.93 wroblewski unit, 四物湯藥物群 1203.10 ± 147.75 wroblewski unit, 淸熱藥物群 1205.78 ± 85.68 wroblewski unit, 解表藥物群 1223.34 ± 112.00 wroblewski unit으로 瀉靑丸 만 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다(Fig. 10).

6) Bilirubin 함량에 미치는 영향

정상군에서는 37.49 ± 5.34 mg/dl 인데 비해, 대조군은 70.10 ± 7.47 mg/dl 로 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸 55.71 ± 6.32 mg/dl, 四物湯藥物群 64.46 ± 8.39 mg/dl, 淸熱藥物群 69.05 ± 7.14 mg/dl, 解表藥物群 66.50 ± 6.77 mg/dl으로 瀉靑丸만 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다(Fig. 11).

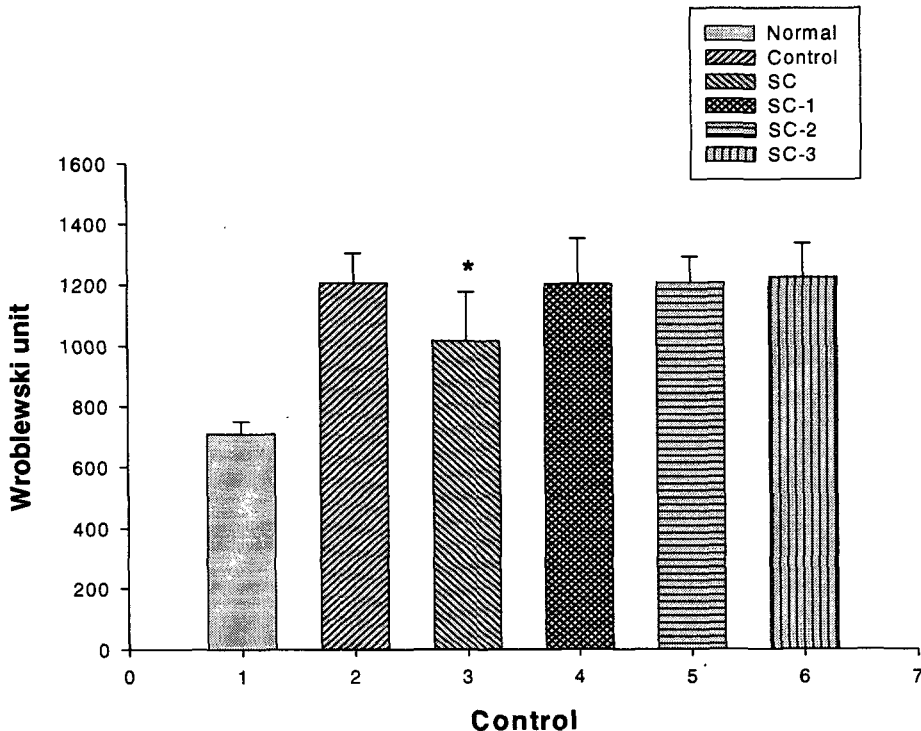


Fig. 10. Effect of the *Sachungwhan*(SC), *Samultang* group(SC-1), *Chungyul* group(SC-2) and *Haepyo* grup(SC-3) extracts on the activity of serum ALP in acetaminophen -treated rat.

* : $p < 0.05$ as compared with control group.

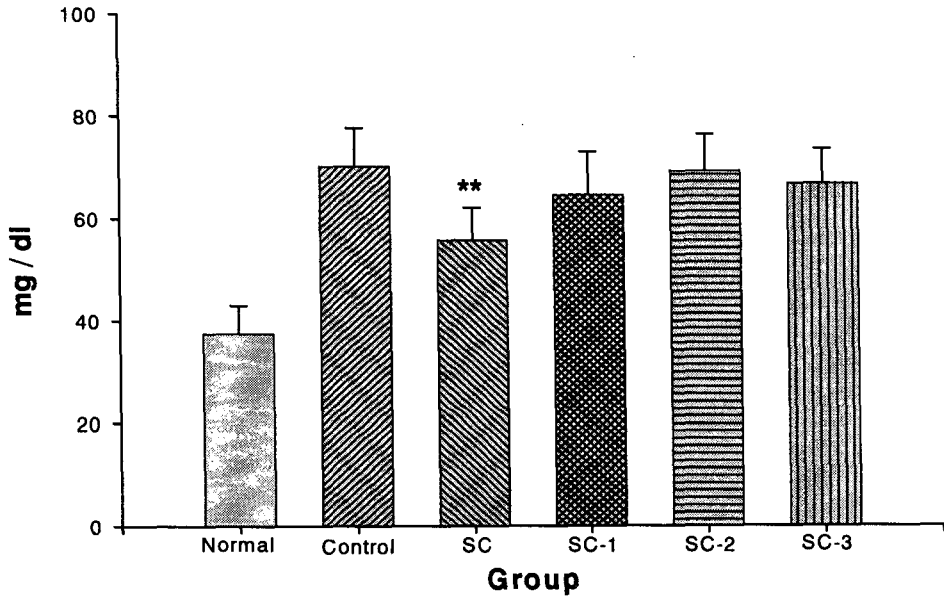


Fig. 11. Effect of the *Sachungwhan*(SC), *Samultang* group(SC-1), *Chungyul* group(SC-2) and *Haepyo* grup(SC-3) extracts on the activity of serum bililubin in acetaminophen- treated rat.

** : $p < 0.01$ as compared with control group.

IV. 考 察

瀉青丸은 錢乙의 『小兒藥證直訣·卷下』⁴⁾에서 출전하는 처방으로 원문에는 瀉青圓方이란 처방명으로 기재되어 있는데, 약물 구성을 보면 當歸, 龍膽草, 川芎, 梔子, 大黃, 羌活, 防風의 7味로 구성되며, 痙攣 뿐 아니라 肝의 實熱로 인한 諸證을 치료하는 처방으로서 肝經鬱火로 인한 目赤腫痛, 煩躁易怒, 尿赤便秘 및 小兒急驚, 熱性痙攣 등을 치료한다. 瀉青丸은 芎歸湯에 龍膽草, 梔子, 大黃, 羌活, 防風을 가한 처방인데, 方 중의 龍膽草는 大苦大寒하여 肝火를 瀉하는 君藥이고, 大黃, 梔子は 龍膽草의 肝膽實火를 瀉하는 작용을 도와 二便을 따라 分消하게 하

고, 當歸, 川芎은 肝血을 養하여 火熱로 肝血이 손상되는 것을 방지하므로 함께 臣藥이 되고, 肝火가 울결하면 木이 條達하는 기능을 잃게 되므로 羌活, 防風의 辛味로서 火鬱을 소산시켜 懇談의 邪가 스스로 제거된다.⁵⁻⁶⁾

瀉青丸 구성약물들에 대한 실험연구보고에 의하면 구성약물들 중 龍膽草, 大黃, 梔子, 當歸 등이 프리라디칼(free radical)에 의한 실험적 간손상에 일정한 회복능력이 있는 것으로 보고되고 있고, 瀉青丸이 간과 관련된 처방이므로 瀉青丸에 간손상에 대한 회복능력이 있을 것으로 추정되었고, 이러한 瀉青丸의 간손상에 대한 회복능력은 항산화작용과 관련될 것으로 생각되었다.

자유기(free radicals)란 화학적으로 최외각 전자궤도에 쌍을 이루고 있지 않는 전자를 지닌 원자나 분자를 의미한다. 이들은 쌍을 이루고 있지 않는 전자를 잃거나 혹은 주위로부터 전자를 하나 더 얻어 보다 안정된 상태로 가려는 성질을 가지고 있기 때문에 불안정하고 높은 반응성을 갖는다. superoxide radical($O_2^- \cdot$), hydroxy radical ($OH \cdot$), 과산화수소(hydrogen peroxide)와 같은 활성산소들(reactive oxygen species)은 체내 각종 세포들의 여러 대사과정에서 끊임없이 생성되고 있는데, 그 예로 미토콘드리아의 전자전달계, peroxisome의 지방산 대사과정, cytochrome p-450 반응, 그리고 포식세포들(neutrophils, eosinophils, monocytes, macrophages)에 의한 respiratory burst 과정 등을 들 수 있다. 산소라디칼(oxygen free radical)로서 활성산소는 반응성이 높기 때문에 주변의 어떤 물질들과도 쉽게 반응하는데, 주로 지질의 산화, DNA의 산화적 손상, 단백질의 산화적 손상을 일으킨다. 이러한 활성산소의 반응성에 대응하여 인체에는 정교한 항산화 방어체계가 발달되어 있으며, SOD, Catalase, GSHpx 등이 이에 해당한다.²⁴⁻²⁷⁾

이러한 생체방어기구에 이상이 초래되거나 각종 물리적, 화학적 요인들에 의하여 활성산소의 생성이 생체방어계의 용량을 초과하게 될 경우 산화적 스트레스가 야기되고, 이로 인해 노화 및 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서 활성산소와 같은 free radical을 소거할 수 있는 화합물(free radical scavengers) 또는 과산화물 생성 억제물질과 같은 항산화제들(antioxidants)은 이와 같은 산화적 스트레스로 인해 일어나는 노화 및 각종 질환의

억제제와 치료제로서 기대되어 이에 대한 많은 연구가 진행되고 있다.²⁸⁻²⁹⁾

간독성 실험동물모델에서 흔히 사용되는 약품으로는 CCl_4 와 acetaminophen이 있는데, 이 중 acetaminophen은 해열진통제로서 흔히 사용되어지는 약으로서 간에서 대사되어 소변으로 배설된다. 이 중 일부는 cytochrome p450에 의해 강한 독성물질로 생성되는데, 이 독성물질을 n-acetylbenzoquinoneimine(NAPQI)이라고 한다. 이 물질은 글루타치온에 의해 환원되어 대사되지만, 고용량을 사용할 경우 글루타치온이 모자라게 되고, NAPQI가 세포 내에 축적되어 간독성을 일으키는 것으로 알려졌다. 최근의 연구에 의하면 NAPQI의 독성만으로는 acetaminophen의 간독성을 설명하는데 충분하지 않다고 하며, NAPQI의 독성 이외에 활성산소(ROS)와 NO의 생성, 지질 과산화물의 생성, 미토콘드리아의 기능부전, 칼슘항상성의 붕괴, apoptosis의 유도 등이 모두 acetaminophen의 간독성 유발기전에 관여하는 것으로 보고되고 있다.³⁰⁻³²⁾

Lipid peroxide는 세포막의 지질성분이 산화되어 나타나는 반응산물이므로, 생체 조직중에서 생화학적 조직 손상의 척도로 널리 이용되며 조직의 산화적 손상에 의해 야기되는 병리현상의 척도로도 활용된다.³³⁻³⁴⁾ 혈청에서 정상군의 MDA 함량에 비해 대조군은 3배 이상 증가하였고, 실험군에서는 瀉青丸만 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다. 또한, 간에서 정상군의 과산화지질 함량에 비해 대조군은 3배 이상 증가하였고, 실험군에서는 瀉青丸만 유의성($p < 0.01$) 있게 감소하였다.

Catalase는 세포내 존재하는 항산화효소로서, H_2O_2 를 분해하여 제거하는 작용을 가

진다.³⁵⁾ 간에서의 정상군의 catalase 활성은 정상군에 비해 대조군은 활성이 약 1/2정도 감소하였다. 실험군에서는 瀉青丸만 유의성($p<0.01$) 있게 증가하였다.

Glutathione은 외부에서 유입된 유독물질과 포함반응을 하여 체외로 배출시키므로,^{36, 37)} 독성물질에 대한 생체의 방어능력을 간접적으로 측정할 수 있는 기준이 될 수 있다. 간에서의 정상군의 GSH 함량은 정상군에 비해 대조군에서 감소하였다. 실험군에서는 瀉青丸이 유의성($p<0.01$) 있게 증가하였고, 다른 실험군들도 유의성($p<0.05$) 있게 증가하였다.

Glutathione-s-transferase는 독성물질을 해독하며, 이중 생리물질을 체외로 배설하는 작용을 촉매하고, organic hydroperoxide를 peroxidation하여 지방산화를 방지하며 세포의 내성을 증가시키는 중요한 작용을 한다.³⁸⁻³⁹⁾ 간에서의 정상군의 glutathione-s-transferase 활성은 정상군에 비해 대조군은 약 1.5배 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸만 유의성($p<0.05$) 있게 감소하였다.

이와같이 *in vivo*에서의 항산화 방어계에 미치는 영향을 살펴본 바 Glutathione 실험 이외에는 실험군들 중 瀉青丸만 항산화계에서의 효소 활성화 및 지질과산화물 제거에 일정한 영향을 미치는 것으로 나타났다. 이상의 결과로 瀉青丸에는 항산화계 효소 활성화와 지질과산화물 제거에 일정한 능력이 있고, 이러한 능력은 瀉青丸의 구성약물들 중 어느 한 구성약물군의 작용보다는 모든 약물군들이 함께 작용할 때 나타나는 작용임을 알 수 있다.

GOT, GPT는 아미노산으로부터 유리되는 아미노기를 α -keto acid로 전이시키는 전이효소로서 모두 간세포 중 세포질에 분

포하고 있으며 조직에 장애가 생기면 혈액중으로 다량 유출되기 때문에 혈청 효소 활성은 증가한다. 그러나 분자량이 크므로 조직에 현저하게 농도가 높고, 혈 중으로도 유출이 쉬운 혈행구조를 갖고있는 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.⁴⁰⁾ 혈청중 GOT 활성에 있어서 정상군에 비하여 대조군은 2배 가량 증가하였다. 실험군에서 瀉青丸만 대조군에 비하여 매우 유의성($p<0.01$) 있게 감소하였다. GPT 활성에 미치는 영향에서는 정상군에 비하여 대조군은 2배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉青丸만 매우 유의성($p<0.01$) 있게 감소하였다.

γ -GTP는 GOT, GPT와 마찬가지로 간세포 중 세포질에 다량으로 분포하며 기질인 γ -glutamylpeptide의 γ -glutamyl기를 다른 amino acid 또는 peptide로 전이시키는 효소이다. 간염, 담즙울체, 간경변, 간암 등의 손상이 오면 혈액 중 다량으로 유출되며 혈중 γ -GTP 활성의 증가 현상을 관찰하여 세포독성 여부를 알 수 있다.⁴¹⁾ 혈청 중 γ -GTP의 활성에 있어서 정상군에 비하여 대조군은 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 大黃甘草飲子가 매우 유의성($p<0.01$) 있게 감소하였고, 사물탕약물군도 유의성($p<0.01$) 있게 감소하였다.

ALP는 가수분해효소의 하나로서 세포 분획중 가용성 분획에 다량으로 분포되고 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 측정하므로써 간 기능 손상 여부를 알 수 있다.⁴²⁾ 혈청중 ALP 활성에 있어서 정상군에 비하여, 대조군은 2배 이상 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸만 매우 유의성($p < 0.01$)있게 감소하였다.

LDH는 세포 분획중 가용성 분획에 존재하는 효소로서 동물조직에 널리 분포하고 주로 혈청을 검체로 하여 분석하며 간질환, 악성종양, 심폐질환, 혈액질환등이 있을 때 혈액중의 분포량이 정상 상태보다 증가되므로 간 기능을 측정하는 지표가 된다.⁴³⁾ 혈청중 LDH 활성에 있어서 정상군에 비해 대조군은 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸만 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였다.

Bilirubin은 간 또는 비장의 망내계세포에서 효소에 의한 산화 환원반응으로 생긴 terrapyrrol 화합물로 물에 불용이며 혈액중에 축적되어 간세포 처리능력이상, 간경변, 간성황달등의 질환이 있을 때 혈중 농도가 증가되므로 간 기능 손상여부를 알 수 있다.⁴⁴⁾ 혈청중 bilirubin 활성에 있어서 정상군에 비해 대조군은 2배 가량 증가하였다. 실험군에서는 瀉靑丸만 매우 유의성($p < 0.01$) 있게 감소하였다.

이상의 결과에서 γ -GTP 이외에 瀉靑丸만 acetaminophen으로 유도된 간독성에 대한 일정한 간기능 개선 효과가 있는 것으로 나타났다. 瀉靑丸과 구성약물군들의 간독성 실험결과는 항산화능력을 측정한 실험의 결과와 같이 주로 瀉靑丸만 유의성 있는 결과를 나타내었다.

결론적으로 대부분의 실험에서 실험군들중 瀉靑丸만 *in vivo*에서 항산화작용과 acetaminophen으로 유도된 간독성에 일정한 회복작용이 있는 것으로 나타났다.

Acetaminophen의 간독성 유발기전에 활성산소도 일정한 역할을 하는 것으로 알려졌고, 瀉靑丸의 구성약물들인 龍膽草, 大黃, 梔子, 當歸 등이 프리라디칼(free radical)에 의한 실험적 간손상에 일정한 회복능력이 있는 것으로 보고되고 있고, 본 실험에서 항산화능력과 간기능회복능력은 瀉靑丸에 주로 있는 것으로 나타났는데, 이와 같은 관점에서 보면 瀉靑丸의 항산화능력이 acetaminophen으로 유도된 간독성에 대한 회복능력에 작용한 것으로 보인다. 또한 약물군으로 나눈 실험결과 瀉靑丸의 치료작용은 어떤 약물군의 단독적인 작용보다는 구성약물들이 함께 작용할 때 생기는 상승·복합작용으로 효과가 나타남을 시사하고 있다. 瀉靑丸은 활성산소와 관련된 간독성에 일정한 치료효과가 있을 것으로 사료되는바, 향후 본 연구를 바탕으로 이에 대한 구체적인 실험적 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 結 論

瀉靑丸의 간독성에 대한 회복능력과 항산화능력을 알아보고, 瀉靑丸의 치료작용에 중요한 역할을 하는 구성약물군을 알아보고자 acetaminophen으로 간독성이 유도된 백서에게 瀉靑丸과 그 구성약물군들- 四物湯藥物群(當歸, 川芎), 清熱藥物群(龍膽草, 大黃, 梔子), 그리고 解表藥物群(羌活, 防風)-을 투여한 후, *in vivo*상의 항산화방어계에 미치는 영향과 간관련 혈청조성변화를 알아본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. *In vivo*에서의 항산화 방어계에 미치는

영향을 살펴본 실험에서 사청환은 5가지 검사항목들(혈청 중 lipid peroxide함량, 간의 lipid peroxide함량, 간에서 catalase 활성, 간에서 glutathion 함량, 간에서 glutathion-s-transferase 활성)에서 모두 유의성을 나타내었다. Glutathione 함량 검사에서는 모든 실험군들에서 유의성이 있었지만, 그 중 사청환의 유의성이 가장 높게 나왔다.

2. 간기능 회복능력을 측정한 실험에서는 T-GTP 활성-사청환($p < 0.01$) 이외에 사물탕 ($p < 0.05$)에서도 유의성 있는 결과가 나왔다. 이외에 瀉青丸만 acetaminophen으로 유도된 간독성에 대한 일정한 간기능 개선 효과가 있는 것으로 나타났다. 瀉青丸과 구성약물군들의 간독성 실험결과는 항산화능력을 측정한 실험의 결과와 같이 주로 瀉青丸만 유의성 있는 결과를 나타내었다.

이와 같이 대부분의 실험에서 실험군들 중 瀉青丸만 *in vivo*에서 항산화작용과 acetaminophen으로 유도된 간독성에 일정한 회복작용이 있는 것으로 나타났고, 항산화능력과 간기능회복능력은 瀉青丸 이외의 다른 구성약물군들에는 없는 것으로 나타났는데, 이와 같은 관점에서 보면 瀉青丸의 항산화능력이 acetaminophen으로 유도된 간독성에 대한 회복능력에 작용한 것으로 추정할 수 있었다. 또한 약물군으로 나눈 실험결과 瀉青丸의 치료작용은 어떤 약물군의 단독적인 작용보다는 구성약물들이 함께 작용할 때 생기는 상승·복합작용으로 효과가 나타나는 것으로 추정된다.

參 考 文 獻

1. 서울대학교의과대학: 소화기학, 서울, 서울대학교출판부, pp.305-315, 1990.
2. 김병운 외: 간계내과학, 서울, 동양의학연구원출판부, pp24-30, 1995.
3. 박재갑: 인간생명과학, 서울, 서울대학교출판부, pp.449-461, 1991.
4. 錢乙: 小兒藥證直訣, 北京, 人民衛生出版社. pp54-55, 1991.
5. 謝鳴: 中醫方劑現代研究, 北京, 學院出版社. p329, 1997.
6. 신민교: 신증 방약합편, 서울, 영림사. pp301-302, 2002.
7. 王本祥: 現代中藥藥理學, 天津, 天津科學技術出版社. pp292-295, 312-314, 368-374, 1290-1304, 1997.
8. 김호철: 한약약리학, 서울, 집문당. pp125-127, 140-141, 174-177, 464-467, 2001.
9. 채중원: 瀉青丸이 Thiocetamine에 의한 백서 간손상에 미치는 영향, 원광대학교. 1984.
10. 이원철: 소아성질환에 응용되는 瀉青丸이 진통, 진경, 해열작용에 미치는 영향, 경희대학교 대학원. 1981.
11. 좌승호: 瀉青丸의 항경련작용에 관한 실험적 연구, 경희대학교 대학원. 1993
12. Retman, S. and Frankel, S. A colorimetic method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, Am. J. Clin. Patol., (28):58-63. 1957.
13. Divon, D. M. Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in diseases of the liver and gallbladder (except

- infectious jaundice), *Vnitr. Lek.*, 15(4):347-356, 1969.
14. Petkoba, J., Popova, N. and Kemileva, Z. Changes of enzyme activity in some organs following thymectomy, *Agressologie.*, 14(5):323-326, 1973.
 15. 熊崎平膝. 岐醫大紀. 日本. (6):94, 1958.
 16. Mashige F., Tanaka N., Maki A., Kamei S., and Yananaka M. *Clinical Chemistry* 27, (8):1352-1356, 1981.
 17. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S., and Yagi, K.: Serum lipoperoxide levels in patients suppering from liver disease. *Clin. Chim. Acta.* 79:267-770, 1977.
 18. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K.: Assay for lipid peroxides animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochem.* 95:351-358, 1978.
 19. Aebi, H.: In *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U. eds.
 20. Ellman, G. L.: Tissue sulfhydryl group, *arch. Biochem. Biophys.*, 82:70-77, 1959.
 21. Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B.: Glutathione S-transferase; the first enzymatic steps in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139, 1974.
 22. Lowry, O. H., Rosehrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J.: Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. chem.*, 193:265-275, 1951.
 23. Daniel M. Bollag, Stuart J. Edelstrein: *Protein Method*, New York, Wileyliss, pp.55-56, 1991.
 24. 한복기. 노화과정에서 활성산소의 역할, *생명공학동향.* 1998;6(2):9-14
 25. Henricks PA, Nijkamp FP. Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulm Pharmacol Ther.* 2001;14(6):409-20
 26. Schnackenberg CG. Oxygen radicals in cardiovascular-renal disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2002 Apr;2(2):121-5
 27. Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy.* 2000;101(10):541-51
 28. 김종평, 유익동. 노화억제를 위한 항산화제 연구, *생명공학동향.* 1998;6(2):25-36
 29. Gate L, Paul J, Ba GN, Tew KD, Tapiero H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed Pharmacother.* May;53(4):169-80, 1999.
 30. 대한병리학회: 병리학, 서울, 고문사, pp12-13, 2000.
 31. Waters E, Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Kay E, Bouchier-Hayes D: Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* Jun;280(6):G1274-9. 2001.
 32. Jaeschke H, Gores GJ, Cederbaum AI, Hinson JA, Pessayre D, Lemasters JJ: Mechanisms of hepatotoxicity. *Toxicol Sci.* Feb;65(2):166-76. 2002.
 33. David, R.: Mechanistic toxicology; A radical perspective. *J.P harm.*

- pharmacol., pp.41, 505-511, 1989.
34. Barry, H.: Oxidants and human disease : Some new concepts, FASEB. J., pp.1, 358-364, 1987.
 35. 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.
 36. Boyland, E. and Chasseud, L. F.: The role of glutathione and glutathione S-transferase in mercapturic acid biosynthesis. *ADV. Enzymol.*, 32:173-219, 1969.
 37. Ross, D.: Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents: mechanism of free radical induced toxicity and glutathione dependent protection. *Pharmacol. Ther.*, 37(2):231-239, 1988.
 38. Armstrong, R. N.: Glutathione S-transferases: Structure and mechanism of an archetypical detoxification enzyme. *Adv. Enzymol.* 69:1-44, 1994.
 39. Hayes, J. D., T. J. Mantle, and C. B. Pickett.: Glutathione-s-transferase and drug resistance. Taylor and Francis. London. 1990.
 40. Retman, S. and Frankel, S. A colorimetic method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, *Am. J. Clin. Patrol.*, (28):58-63. 1957.
 41. Konobu, k., Yamamoto, E., Toyomoto, M. and Sawanishi, K.: Effect of uremic middle molecules removed during hemifiltration on the enzyme activity in rat liver cystol, *Nippon-Jinzo-Gakkaishi*, 33(1):1105-1110. 1991.
 42. Higashi, T., Tateishi, N. and sakamoto, Y. Liver glutathione as a reservior of L-cystine. In : *Sulfur Amino Acids, : Biochemical and Clinical Aspects*, Alan R. Liss, New York, pp.397-410. 1983.
 43. Albert L. Lehninger: 생화학. 서울외국서적. p.496. 1988.
 44. 이귀령 外 : 臨床病理file. 서울. 醫學文化社. p229, 256, 259, 278, 355. 1990.