

生藥複合製劑의 藥効 研究 (第 1 報)

加味三黃湯이 中樞神經系에 미치는 影響

洪南斗·金鍾禹·宋一炳·金南宰
慶熙醫療院

Studies on the Efficacy of Combined Preparations of Crude Drug (I)

The Effect of "Kamisamhwang-Tang" on Central Nervous System

N. D. HONG, J. W. KIM, I. B. SONG and N. J. KIM
Kyung-Hee Medical Center

In order to investigate the efficacy of combined preparations of crude drug, first, "Kamisamhwang-Tang" were examined for pharmacological effect. Crude drug preparations were extracted successively with H₂O and MeOH, and the extracts were developed on silicagel G plate were examined using the Dual-Wavelength TLC Scanner CS-910 (Schimadzu) in ultra violet region.

To estimate the clinical usefulness of "Kamisamhwang-Tang" in heart disease (Symbyung syndrome), the above extracts were made an experiment on effects of the anticonvulsion, antipyretic, analgesic and sedative in mice, rats, and rabbits.

漢藥은 紀元 1~2世紀 神農本草經¹⁾에 365種을 効能別로 分類收錄한 후 張仲景에 依해 傷寒論 金匱要略²⁾의 處方集이 發刊된 以來 20世紀에 이르는 동안 數많은 漢方 處方集이 發刊되어 人類 保健에 크게 功獻하여 왔으며 20世紀에 이르러 天然物化學의 發達로 有効成分의 單離 化學構造式의 決定 藥理學的 藥効의 追究등에 依하여 漢方 古書에 收錄된 効能이 認定됨에 따라 醫藥物로서 價値를 再評價하게 되었고 現代醫藥의 研究對象으로 되고있다. 그러나 이들의 研究가 大部分 生藥單種을 對象으로 하고 있으며 生藥複合劑에 對한 効能 및 生藥 相互間의 作用등에 關하여는 散發的인 研究가 있을뿐 一括된 生藥複合劑에 對한 藥効 研究는 아직 試圖한 바 없다.

著者들은 長久한 歲月동안 經驗으로만 傳하여 내려온 優秀한 漢方 處方集들이 아직도 科學的

인 基礎研究가 되어있지 아니하여 이들을 檢討하기 위하여 古書文獻을 中心으로 많이 쓰여지고 있는 處方을 골라 各種 實驗動物을 써서 文獻上의 効能確認 및 基礎藥理的 効能을 追究하고자 優先 加味三黃湯을 選定하였다.

加味三黃湯은 王肯堂이 立方한 處方으로 六料準繩³⁾등에 收錄되어 있으며 三黃湯인 黃蓮 黃芩 大黃에 梔子 連翹 蘇木 漏蘆를 加味한 것으로 瀉心湯이라고도 불리우고 있다.

加味三黃湯은 心病證으로 困한 胸煩 心部疼痛 發熱과 諸 瘡瘍등에 有效하다고 記錄되어 있다.

基本方인 三黃湯에 關하여는 많은 報文이 있으나 加味三黃湯에 對하여는 아직 研究報文을 찾아 볼 수 없다.

漢方 文獻에서 心病證⁴⁻¹¹⁾의 病症은 心熱, 心火라하여 神經精神作用과 血液循環作用의 二 効能으로 나누고 있으며 加味三黃湯의 効能을 大

別하여 보면 中樞神經系, 循環器系 및 抗菌作用 別로 分類할 수 있어 먼저 中樞神經系에 關한 作用을 究明하고자 抗痙攣作用, 解熱 鎮痛作用 phentobarbital sodium에 依한 催眠時間 延長作用 등을 試驗 관찰 비교하여 그 結果를 報告하고자 한다.

實 驗

가) 實驗材料 및 實驗動物

1) 實驗材料: 本 實驗에서 使用한 材料는 서울 市內 乾材藥房에서 入手한 材料中 업선한 것 을 使用하였으며 또한 本 實驗에서 使用한 方劑의 處方內容은 다음과 같다.

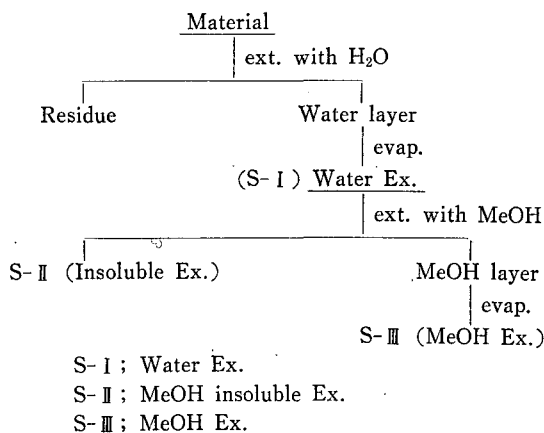
大黃(<i>Rhei Rhizoma</i>)	5.62g
漏蘆(<i>Siphonostegiae Radix</i>)	2.63g
澤蘭(<i>Eupatorii Herba</i>)	2.63g
梔子(<i>Gardeniae Fructus</i>)	2.63g
連翹(<i>Forsythiae Fructus</i>)	2.63g
黃連(<i>Coptidis Rhizoma</i>)	2.63g
黃芩(<i>Scutellariae Radix</i>)	2.63g
蘇木(<i>Caesalpiniae Lignum</i>)	2.63g

2) 檢液의 調製: 上記 處方 20貼 分量 480g을 細切하여 Scheme I 과 같이 물로 3回 4時間 加熱 抽出하고 吸入 濾過한 濾液을 rotary evaporator에서 減壓濃縮하여 粘稠性의 抽出物을 S-I 으로 하였다. 이 抽出物 一部를 取하여 메탄올로 分割하여 메탄올 可溶部와 메탄올 不溶部로

하였으며, 메탄올 不溶部는 Silica gel desiccator 中에서 乾燥하여 S-II 로, methanol 可溶部는 rotary evaporator에서 減壓 濃축하여 粘稠性의 抽出物을 S-III 로 하였다. 檢液은 各 分割抽出物中 水分을 測定하고 本 實驗에서 必要한 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

3) 檢液의 同定: 上記 2)에서 얻은 各 檢液을 展開溶媒에 溶解시켜 常法에 따라 Silica gel G를 吸着劑로 하고 展開溶媒 n-butanol: AcOH: HOH (12:3:5)를 使用하여 TLC를 行하고 Dual Wavelength TLC Scanner C.S-910 (Shimadzu, 日本)로 U.V (λR 350nm, λS 250nm) 波長에서 scanning한 各 檢液의 固有曲線은 Fig. 1과 같았다.

4) 實驗動物: 實驗動物은 中央動物 dd系 생쥐



Scheme I. Preparation of samples.

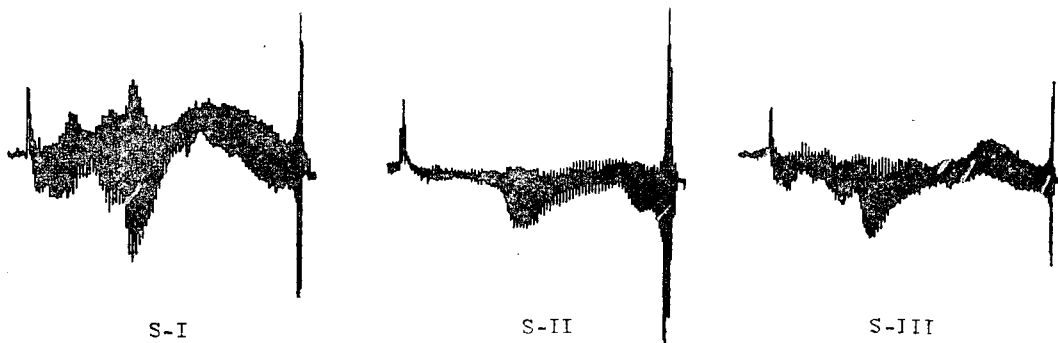


Fig. 1. Zig-zag TLC scanning profiles of "Kamisamhwang-Tang"

Absorbent: Silicagel G
Solvent: n-BuOH : AcOH : HOH=12 : 3 : 5
Scanning: λR :350nm, λS :250nm.

(♀) 體重 16~25g, 家兔(♂) 體重 1.5~3.5kg 흰쥐(♀) 體重 100~150g, 을 사용하였으며飼料는 特別히 明示하지 않는 限 第一飼料(株)의 固定飼料로 飼育하였고 물은 充分히 供給하면서 2 週間 實驗室環境에 順應시킨 後에 使用하였다. 實驗은 特別히 明示하지 않는 限 24±2°C에서 實施하였다.

實驗方法

가) 抗痙攣作用

抗痙攣作用은 strychnine, picrotoxine, caffeine 으로 일어나는 痙攣의 抑制를 基準으로 試驗하였다. ¹²⁻¹⁴⁾

1) **Anti-strychnine**作用 : 생쥐 1群을 5匹로 하여 檢液을 各各 30mg/10g씩 皮下注射한 後 3 分만에 strychnine nitrate 0.9mg/kg을 皮下注射하고 이것에 依하여 일어나는 強直性痙攣 發現時間과 死亡與否를 觀察하였다.

2) **Anti-picrotoxine**作用 : 생쥐 1群을 5匹로 하여 檢液을 各各 30mg/10g씩 皮下注射한 後 3 分만에 picrotoxine 5mg/kg을 皮下注射하고 이것에 依하여 일어나는 間代性痙攣 發現時間과 死亡與否를 觀察하였다.

3) **Anti-caffeine**作用 : 생쥐 1群을 5匹로 하여 檢液을 各各 30mg/10g씩 經口投與 40分 後에 caffeine 280mg/kg을 腹腔內 投與하고 이것에 依하여 일어나는 痙攣發現時間과 死亡與否를 觀察하였다.

나) 鎮痛作用

1) **醋酸法** : Whittle 方法¹⁵⁾에 따라 1群을 5匹로 하여 檢液을 各各 30mg/10g씩 經口투여 30 分 後에 0.7%醋酸 0.1ml/10g을 복강內 注射하고 10分 後에 10分間의 writhing syndrome의 빈도를 조사하여 aminopyrine 1mg/10g 投與群과 比較 觀察하였다. ^{16,17)}

2) **後肢加壓法** : Randall-Selitto 方法¹⁸⁾에 따라 흰쥐 1群을 5匹로 하여 檢液을 各各 3g/kg 및 對照藥物 aspirine 200mg/kg을 經口投與 1時間 後에 신선한 egg white를 實驗動物의 後肢足蹠에 0.05ml씩 皮下注射하고 1, 2, 3, 4, 5時間 동안

경시적으로 basile analgesy meter-7200 (Vgo Basile C.O. Thaly)를 使用하여 rat가 squeak를 낼때를 終末點으로 하여 逆値를 測定하였다. ¹⁹⁻²¹⁾

다) 體溫에 對한 作用

1) **Rat에 對한 解熱作用** : 高木等^{19,22)}의 方法에 따라 생쥐 1群을 5匹로 하여 typhoid vaccine 0.05ml/100g을 尾靜脈에 注射하고 90分 後에 檢液을 各 1,000mg/kg, 100mg/kg씩 經口투여하고 30~60分 간격으로 4시간 동안 경시적으로 直腸溫度를 측정하였으며 解熱劑 aminopyrine 100 mg/kg 經口投與群과 比較 觀察하였다.

2) **家兔에 對한 解熱作用** : 高木等^{22,23)}의 方法에 따라 家兔 1群을 4匹으로 하여 typhoid vaccine 0.08ml/kg을 耳靜脈에 注射하고 90分 後에 檢液을 各各 300mg/kg씩 經口투여하고 30~60 分 간격으로 4時間 동안 直腸溫度로 測定하였으며 解熱劑 aminopyrine 300mg/kg 投與群과 比較 觀察하였다.

라) Phentobarbital sodium 睡眠時間에 미치는 作用

생쥐 1群을 5匹로 하여 phentobarbital sodium 20mg/kg을 복강內 注射하고 正向反射의 消失로부터 正向反射 出現까지의 時間을 수면시간(min)으로 하였다. 檢液을 各各 30mg/10g을 經口投與 60分 後에 phentobarbital sodium 20mg/kg을 복강內 注射하여 睡眠持續時間을 測定하였다. ^{24,25)}

實驗結果

가) 投痙攣效果

1) **Anti-strychnine**效果 : Strychnine nitrate 0.9mg/kg을 各各 單獨 投與한 생쥐群에서는 모두 間代性 痙攣發現後 死亡하였으며 檢液 S-Ⅲ 30mg/kg에서만이 p<0.01로 有意性이 있는 痙攣 發現時間 및 死亡時間에 약간 抑制性이 認定되었을 뿐 死亡率에 미치는 영향은 없었다. (Table I)

2) **Anti-picrotoxine** 效果) : Picrotoxine 5mg/kg을 各各 단독 투여한 생쥐群에서는 모두 死亡하였고, 檢液 S-Ⅲ 30mg/10g에서만이 p<0.01

로 有意性이 있는 약간의 抑制性을 認定되었을 뿐 有意性을 찾아 볼 수 없었다(Table II).

3) **Anti-caffeine** 效果 : caffeine 280mg/kg을 各各 단독 투여한 생쥐群에서는 모두 死亡하였

고 檢液 S-I 30mg/kg에서는 약간의 抑制의 傾向이 있었으며 檢液 S-III 30mg/kg에 있어서는 死亡率 및 痙攣發現效果가 현저히 나타났었다 (Table III).

Table I. Inhibitory effects of "Kamisamhwang-Tang" on strychnine nitrate induced convulsion in mice.

Compound	Dose (mg/10g p.o.)	Number of animals	Number of tonic convulsion	Number of death	Number of survival	Mean time to tonic convulsion	Mean time to death (min.)
Control	—	5	5	5	0	6.4±1.1	6.8±1.1
Sample I	30	5	5	5	0	6.6±0.8	7.3±1.0
Sample II	30	5	5	5	0	5.6±0.9	5.9±0.7
Sample III	30	5	5	5	0	11.2±1.6**	20.6±0.5**

M±S.E.: Mean±Standard Error.

Significant: **: p<0.01.

Table II. Inhibitory effect of "Kamisamhwang-Tang" on picrotoxin induced convulsion in mice.

Compound	Dose (mg/10g p.o.)	Number of animals	Number of clonic convulsion	Number of death	Number of survival	Mean time to clonic convulsion(min)	Mean time to death (min)
Control	—	5	5	5	0	10.7±1.4	21.8±3.6
Sample I	30	5	5	5	0	8.0±0.6	16.9±1.4
Sample II	30	5	5	5	0	11.7±1.9	22.4±3.6
Sample III	30	5	5	4	1	13.9±3.3*	21.6±3.7

M.±S.E.: Mean±Standard error

Significant: *: p<0.05.

Table III. Inhibitory effects of "Kamisamhwang-Tang" on caffeine induced convulsion in mice.

Compound	Dose (mg/10g p.o.)	Number of animals	Number of central convulsion	Number of death	Number of survival	Mean time to central convulsion(min)	Mean time to death (min)
Control	—	5	5	5	0	3.0±1.2	16.0±3.1
Sample I	30	5	5	4	1	>2.6±0.6	24.7±5.1
Sample II	30	5	5	5	0	2.6±0.8	23.2±2.7
Sample III	30	5	2	1	4	>3	—

M.±S.E.: Mean±Standard error.

나) 鎮痛效果

1) 醋酸法 : 0.7% 醋酸 0.1ml/10g을 투여한 생쥐群에서는 153회의 writhing syndrom이 있었으나 檢液 S-I 30mg/10g 投與群은 113회로 26.1%의 억제效果를 나타내었다. (Fig. 2)

2) 後肢加壓法 : Fig. 3에서 나타낸 것과 같이

흰쥐에 egg white를 後肢足蹠에 注入한 加壓鎮痛實驗에서 檢液 S-I, S-II, S-III의 300mg/100g씩 투여한 群은 對照群에 比하여 鎮痛效果가 認定되었으며 各群은 類似한 鎮痛效果를 나타내었다.

다) 體溫에 對한 效果

Compound	Dose(Po) (mg/10g)	No. of animals	Number of writhing syndromes		
			50	100	150
Control	-	5	[Bar chart showing high number of writhing syndromes]		
Sample I	30	5	[Bar chart showing reduced writhing syndromes]		
Sample II	30	5	[Bar chart showing reduced writhing syndromes]		
Sample III	30	5	[Bar chart showing reduced writhing syndromes]		
Aminopyrine	1	5	[Bar chart showing very low writhing syndromes]		

Fig. 2. The analgesic effects of "Kamisamhwang-Tang" on writing symptom of mice.

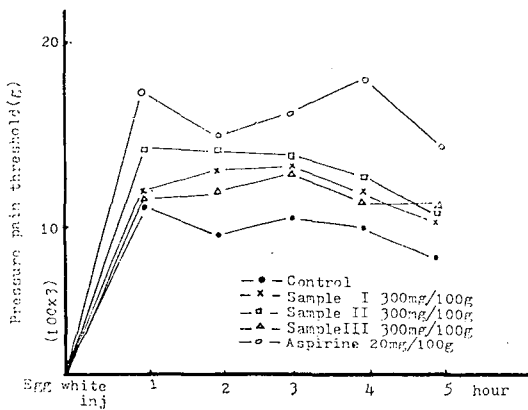


Fig. 3. Analgesic effects of "Kamisamhwang-Tang" on pressure pain threshold of the rat hind paw (Randall-selitto method).

1) Rat에 대한 解熱效果: Typhoid vaccine 0.05ml/100g 투여한 흰쥐에 대하여 檢液 S-I 10mg/100g와, S-I 100mg/100g 투여에서 解熱

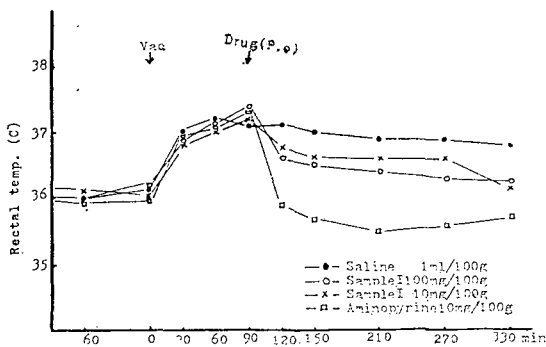


Fig. 4. Antipyretic effects of "Kamisamhwang-Tang" on the typhoid vaccine febrile rat.

효과를 나타냈으며 100mg/100g의 高濃度에서는 解熱效果가 强하게 나타났다(Fig. 4).

2) 家兎에 對한 解熱效果: Typhoid vaccine 0.08ml/kg 투여한 家兎에 對하여 檢液 S-I, S-II, S-III 300mg/kg 투여군 모두 對照群에 比하여 현저한 解熱效果가 나타났으나, 檢液 S-I, S-II, S-III의 順으로 效果를 나타내었다(Fig. 5).

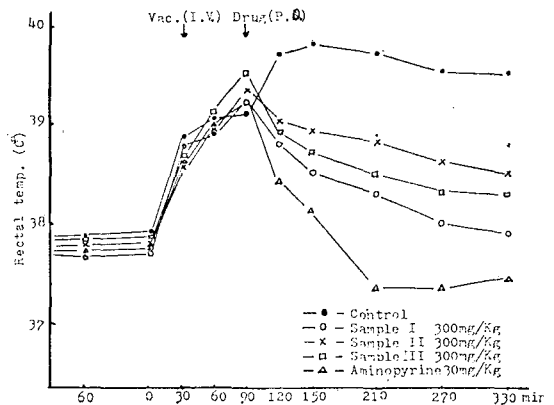


Fig. 5. Antipyretic effects of "Kamisamhwang-Tang" on the typhoid vaccine febrile rabbit.

라) Pentobarbital sodium 睡眠時間에 미치는 效果

Table IV에서와 같이 phentobarbital sodium 으로 因한 睡眠時間 延長은 檢液 S-III 30mg/10g 投與群에서만이 對照群에 比하여 有意性 있는 睡眠效果(p<0.01)를 나타내었다.

Table IV. Effects of "Kamisamhwang-Tang" on duration of anesthesia induced by sodium phentobarbital in mice

Compound	Dose (mg/10g p.o.)	Number of animals	Beginning time of anesthesia (min)	Anesthesia time (min)
Control	—	5	3.0±0.2	26.7±2.2
Sample I	30	5	4.1±0.8	28.1±2.6
Sample II	30	5	3.0±0.7	30.5±1.6
Sample III	30	5	4.1±1.0	38.8±4.0**

M.±S.E.: Mean±Standard error

Significant: **: p<0.01.

結果 및 考察

漢藥方劑는 여러 種類의 漢藥으로 구성하고 있어 그 作用性도 多樣하여 이를 追究하고자 瀉心湯 試料를 물로 湯煎한 藥液을 농축하여 檢液(S-I)으로 하고 다시 methanol로 分離하여 非可溶部分(S-II) 可溶部分(S-III)로 나누어 實驗에서 얻은 成績을 考察하면 다음과 같다.

抗痙攣實驗에서 脊髓性痙攣 strychnine, 腦幹性痙攣 picrotoxin, 大腦皮質性痙攣 caffeine으로 痙攣을 誘發시켜 抑制性을 觀察한바 脊髓性痙攣 strychnine 0.9mg/kg과 腦幹性痙攣 picrotoxin 5mg/kg에 對하여 檢液 S-III 30mg/10g에서 痙攣發現時間 및 死亡時間에 有意性을 나타내었고 大腦皮質性痙攣 caffeine 280mg에 對하여 檢液 S-I 30mg/10g에서는 20%의 死亡率에 抑制效果를 나타내었고, 檢液 S-III 30mg/10g에서는 80%의 強한 抑制效果를 나타내었다. 檢液 S-III이 中樞性痙攣 억제에 顯著한 效果가 認定된 것은 抑制效果가 없는 檢液 S-II 部分을 除去하기 때문에 有效性 部分의 濃도가 높기 때문으로 생각된다.

解熱, 鎮痛作用을 觀察하기 爲하여 writhing response(醋酸法)로 各 檢液部分을 確認한 바 對照群 aminopyrine 1mg/10g, 91.5%에 비하여 檢液 S-I 30mg/10g에서 45.1%, S-II 33.9%, S-III 26.1%의 效果를 나타내었다.

中樞性 鎮痛效果는 各群이 類似한 鎮痛效果가 認定되었다.

解熱作用을 觀察하기 위하여 흰쥐를 typhoid

vaccine으로 發熱시켜 檢液 S-I 10mg/100g, 100mg/100g을 抑與한 바 檢體의 濃도에 따라 解熱效果의 差를 나타내었다. 한편 家兎에 發熱시켜 各 檢液 S-I, S-II, S-III 300mg/kg을 投與한 바 檢液 S-I, S-III, S-II의 順으로 解熱效果를 나타내었다.

Phentobarbital sodium에 依한 睡眠時間은 檢液 S-III 30mg/10g에서 有意性을 나타내었다.

高木등²⁴⁾은 phentobarbital sodium의 수면시간 延長은 鎮靜作用의 重要 要因이 된다고 하였다. 鎮痛, 解熱, 抗痙攣實驗과 相關하여 볼 때 鎮靜作用이 認定된다. (1981년 12월 9일 접수)

參考文獻

1. 吳 普: 新農本草經, 翰林社, (1976).
2. 朴憲在: 金匱要略(完譯), 書苑堂, 331 (1978).
3. 王肯堂: 外科準繩, 柳林社, 77, 195 (1967).
4. 李文宰: 現代東洋醫學, 杏林書院, 127 (1975).
5. 許 浚: 東醫寶鑑, 高文社, 141, 419, 545 (1975).
6. 朱 櫛: 普濟方, 甫成社, 16, 393, 386, 415, 421. (1981).
7. 張從正: 儒門事親, 古典漢醫學研究會, 2, 67, (1975).
8. 華 佗: 中藏經, 卷上, 三醫堂, 7 (1977).
9. 陳 言: 三國方, 旋風出版社, 1:10 (1973).
10. 陳存仁: 診斷學講義, 存仁中醫學院(香港), 110 (1960).
11. 江蘇新醫學院編: 常見病中醫臨床手冊, 北京, 14-17 (1979).
12. 洪南斗: 慶熙藥大論文集, 5, 27 (1977).
13. 加藤正秀, 上野順一, 倉賢一, 林直樹: 日應用藥理,

- 5, 631 (1971).
14. Bastian, J.W., Krause, W.E., Rindrom, S.A., and Ercoli, N.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, **127**, 25 (1959).
15. Whittle, B.A.: *Brit. J. Pharmacol.*, **22**, 246 (1949).
16. Koster, R. Anderson, M. and Debeer, E.J.: *Fed. Proc.* **18**, 412 (1959).
17. Siegmund, E., Cardmus, R. and Lu, G.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **95**, 729 (1959).
18. Randall, L.O. and Selitto, J.J.: *Arch. Int. Pharmacodyn Ther*, **111**, 408 (1957).
19. 上壽等：薬効の評價。地人書館(1972)。
20. 高木敬次郎等：日薬理誌, **67**, 514 (1971)。
21. C.A., Winter: *J. Pharmacol. Exp. Therap*, **150**, 165 (1965)。
22. 高木敬次郎, 小澤光：薬理学実験, 南山堂(1970)。
23. 高木敬次郎, 李殷芳：日薬誌, **92**, 951 (1972)。
24. 高木敬次郎, 原田正敏：日薬誌, **89**, 879 (1969)。
25. 山原條三：日薬理誌 **72**, 899 (1976)。