

生藥複合製劑의 藥效研究 (第 6 報)

生肝健脾湯의 血清中 酵素活性度, 成分含量 및 利膽效果에 對한 作用

洪南斗·金鍾禹·金秉雲·孫楨坤

慶熙醫療院

Studies on the Efficacy of the Combined Preparation of Crude Drugs (VI)

Effect of "Saengkankunbi-Tang" on Activities of the Liver Enzyme, Protein Contents and the Excretory Action of Bile Juice in the Serum of CCl₄-intoxicated Rabbits

N. D. HONG, J. W. KIM, B. W. KIM and J. G. SHON

Kyung-Hee Medical Center

In order to investigate the pharmacological action of the combined preparation of crude drugs, "Saengkankunbi-Tang" were studied. These studies were conducted in an attempt to investigate the effect of "Saengkankunbi-Tang" on activities of the liver enzyme, protein contents and the excretory action of bile juice in the serum of CCl₄-intoxicated rabbits. The results of this invstigate were summerized as follows;

GOT, GPT activities and total cholesterol contents in the serum of rabbits induced by CCl₄ were shown to the remarkable decrease with the passage of the time in the oral administration of the sample.

Albumin contents in the serum of rabbits induce by CCl₄ were noted to the significant increase with the passage of the time.

Serum total protein contents were noted to the significant increase only the 4th and 6th day.

BSP accumulation contents in the serum of rabbits induced by CCl₄ showed the remarkable decrease with the passage of the time.

生肝健脾湯은 金이¹⁻³⁾ 茵陳外 18種의 生藥을 混合하여 利膽, 利尿, 健脾, 安胃를 도모하여 肝機能을 원활케 하는 效果의 目的으로 制方한 處方이다.

本草綱目に 處方の 主藥이라고 할 수 있는 茵陳은 氣味가 苦辛微寒하며 濕熱을 淸淨하고 利膽하여 黃疸을 退治하며, 白朮은 健脾化濕의 效가 있고, 厚朴, 陳皮는 主藥을 도와 燥濕하는 效와 더불어 行氣消脹하고 止痛, 止嘔의 效가 있으며 澤瀉, 猪苓, 白茯苓은 利尿除濕의 主藥

이며 甘草는 助脾和中하고 藿香은 芳香, 化濕, 理氣, 和胃하여 止嘔의 效가 있으며 山楂肉, 麥芽는 消食, 消積, 健胃, 止痛의 效가 있다고 하였다. 또한 萊菔子, 三蘆, 蓬朮은 瘀血과 積聚를 破散시키는 功效가 있으며 枳實, 青皮는 疎目, 散積, 安脾의 功效가 그리고 生薑은 止嘔, 開胃의 效가 있는 것으로 되어있다.

生肝健脾湯은 이러한 藥物로 構成되어져 있으며 廣範圍한 肝臟疾患에 많은 臨床的인 活用과 그에 對한 臨床報告가 있었으나 아직 實驗報文

이 없었으므로 그의 效能을 究明하고 그 作出點을 追究하고자 著者들은 生肝健脾湯의 煎湯濃縮液을 檢體 S-I 으로 하고, 同濃縮液을 MeOH로 處理하여 MeOH 不溶部를 檢體 S-II, 可溶部를 檢體 S-III로 하여 이들 檢體에 對하여 血清中の 酵素活性度, 血液成分의 含量, 利膽試驗을 行한 바, 몇가지 知見을 얻었기에 報告하는 바이다.

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 市中 乾材藥房에서 入手하고 이를 選別하여 使用하였으며, 그 處方 構成은 다음과 같다.

茵 陳 <i>Artemisiae iwayomogis Herba</i>	15.00g
澤 瀉 <i>Alismatis Rhizoma</i>	15.00g
白 朮 <i>Atractylodis Rhizoma alba</i>	7.50g
山查肉 <i>Crataegi Fructus</i>	7.50g
麥 芽 <i>Hordei Fructus</i>	7.50g
陳 皮 <i>Aurantii nobilis Pericarpium</i>	3.75g
白茯苓 <i>Hoelen</i>	3.75g
豬 苓 <i>Polyporus</i>	3.75g
厚 朴 <i>Machili Cortex</i>	3.75g
藿 香 <i>Agastaches Herba</i>	3.00g
蘿 菘子 <i>Raphani Semen</i>	3.00g
枳 實 <i>Ponciri Fructus</i>	3.00g
三 陵 <i>Scipi Tuber</i>	3.00g
蓬 朮 <i>Zedoariae Rhizoma</i>	3.00g

青 皮 <i>Aurantii Pericarpium</i>	3.00g
唐木香 <i>Saussureae Radix</i>	3.00g
砂 仁 <i>Amomi Semen</i>	3.00g
甘 草 <i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.00g
生 薑 <i>Zingiberis Rhizoma</i>	3.00g

2) 檢液의 調製: 上記한 處方의 10貼 分量 975g을 細切하여 물로 4時間씩 3回 加熱抽出하고 濾液을 減壓濃縮하여 얻은 점조성의 抽出物을 檢體 S-I 으로 하였다. 이 抽出物 一部를 取해 MeOH로 分割抽出하여 MeOH 不溶部와 MeOH 可溶部로 하였으며, MeOH 不溶部는 乾燥器 (Silicagel desicator) 中에서 乾燥하여 檢體 S-II 로, MeOH 可溶部를 減壓濃縮하여 얻은 점조성의 抽出物을 檢體 S-III로 하였다. 檢液은 各 抽出物을 本 實驗에 必要한 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

3) 檢液의 同定: 上記 2)에서 얻은 各 檢體를 常法에 따라 silicagel 60 F₂₅₄를 吸着劑로 使用하여 展開溶媒 n-BuOH:AcOH:H₂O(12:3:5)로 TLC를 行하고 dual wavelength TLC scanner C.S-910(Shimaduz)으로 UV(λ_R 350nm, λ_S 250 nm) 波長에서 scanning한 各 檢體의 固有曲線은 Fig. 1과 같았다.

4) 實驗動物: 實驗動物은 家兔(♂) 體重 1.5~2.2kg, 흰쥐(♀) 體重 120~180g을 使用하였으며, 飼料는 特別히 明示하지 않는 限 계일사료(株)의 固形飼料로 사육하였고, 물은 充分히 供給하면서 2週間 實驗室環境에 順應시킨 後에 使

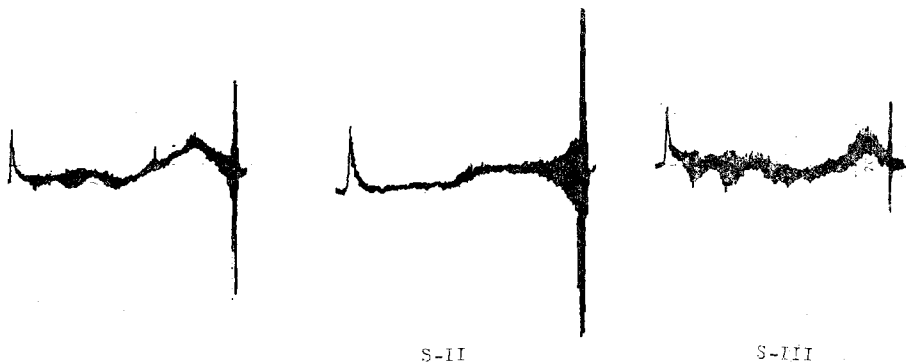


Fig. 1. Zig-zag TLC scanning profiles of "Saengkankunbi-Tang"
 λ_R : 350nm, λ_S : 250nm. Solvent:n-BuOH:AcOH:HOH (12:3:5)
 Silicagel 60 F₂₅₄, 0.25mm (E. Merck. Co.) Temp.: 25°C.

用하였다. 動物實驗은 24±2°C에서 實施하였다.

나) 實驗方法

1) CCl₄로 誘發된 肝損傷 家兔 血清中の 酵素 活性化도 및 成分含量試驗: 家兔를 5匹씩 1組로 하여 5群으로 區分하고, 對照群에는 CCl₄를 右側 背部에 皮下注射한 다음(1日 1回 4日間)30分이 經過한 後 0.9%-saline을 2ml/kg씩 經口投與 하였으며, 檢液 S-I, II, III群은 對照群과 마찬가지로 CCl₄中毒을 일으키고 0.9%-saline代身에 各 檢液을 實驗動物에 0.5g/kg씩을 CCl₄投與하기 2日前부터 1日 2回 6日間 投與하였다.

CCl₄를 注射하여 48時間이 經過하면 2日 간격으로 4回 家兔의 耳靜脈에서 左右交代로 2.0ml씩 採血하여 3,000r.p.m에서 20分間 遠心分離한 血清을 實驗에 使用하였다.

血清中 GOT 및 GPT活性化도는 Reitman-Frankel法^{4,5)} 準하여 行하였다. 試驗管에 緩衝基質液 1.0ml씩을 넣고, 水浴(37°C)에서 5分間 加溫한 다음 血清 0.2ml를 lambda pipet(200μl)으로 加한 後 37°C에서 GOT인 경우 1時間, GPT인 경우에는 30分間 加溫하고, DNPH發色液을 1ml씩 加하여 室溫에서 20分間 放置한후 0.4N-NaOH 溶液 10ml씩을 넣어 잘 混合하여 10分間 靜置하여 試液으로 하였다. 다음 蒸溜水를 對照로 하여 spectrophotometer (Bausch & Lomb) 505mm에서 吸光度를 測定하였으며 따로 標準液을 0.0, 0.1, 0.2, 0.3 및 0.4ml에 對하여 上記와 同一한 操作에 의해서 calibration curve를 作成하였다.

血清中 total cholesterol 含量은 酵素法^{6,7)}을 利用하여 各 試驗管에 血清 0.02ml, 標準液(300 mg/dl) 0.02ml 및 蒸溜水 0.02ml씩 各 lambda pipet으로 取하여 넣고, 酵素試藥(國際試藥, 日本) 3.0ml를 各 試驗管의 기벽을 따라 積層시킨後 混合한 다음 水浴(37°C)에서 20分間 加溫한 다음 blank를 對照로 標準液의 吸光度(Estd) 및 試液의 吸光度(Es)를 505 nm에서 spectrophotometer로 測定하였다.

$$\text{Total cholesterol 含量(mg/dl)} = \frac{Es}{Estd} \times 300$$

酵素活性化도 測定時와 同一한 方法으로 肝損傷

을 誘發시키고 檢液의 投與는 檢液 S-I-①을 0.25g/kg, 檢液 S-I-②를 0.5g/kg, 檢液 S-I-③를 1.0g/kg씩 投與한 群을 使用하여 albustrate 法^{4,8)}에 따라 各 試驗管에 血清 0.01ml, 標準血清 0.01ml를 各 各 넣고 albustrate試藥(영동製藥) 5.0ml를 加한 後 室溫에서 5分間 放置하여 albustrate를 對照로 630nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하였다.

Albumin 含量(g/dl) =

$$\text{標準血清 albumin 含量} \times \frac{Es}{Estd}$$

血清中 albumin 含量測定時와 同一한 方法으로 얻은 血清을 Biuret法⁹⁾에 따라 各 試驗管에 0.1ml, 標準血清 0.1ml씩을 各 各 넣고 biuret試藥(영동製藥) 5.0ml를 加한 後 室溫에서 25分間 放置하여 biuret試藥을 對照로 545 nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하였다.

Total protein 含量(g/dl) =

$$\text{標準血清 total protein 含量} \times \frac{Es}{Estd}$$

2) 利膽試驗: 血清中 albumin 含量測定時와 同一한 方法으로 肝損傷誘發 및 藥物投與를 行하였으며 CCl₄를 注射하여 48時間이 經過하면 2日 간격으로 4回 家兔의 耳靜脈에 BSP 10mg/kg을 注射하고 正確히 15分이 經過한 後 다른 쪽 耳靜脈에서 1ml를 採血하고 血清을 分離하여 0.2ml씩을 a, b 試驗管에 取하고 0.9% saline으로 20倍 희석한 後, a에는 10% NaOH 2적, b에는 10% HCl 2적씩을 加하였다. b를 對照로 하여 575 nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하였으며 따로 BSP 試液을 0, 1, 2, 5, 10ml에 對하여 上記와 同一한 操作에 의해서 calibration curve를 作成하였다.^{10,11)}

實驗成績

CCl₄로 誘發된 肝損傷 家兔 血清中 酵素活性化도 및 成分含量試驗에 있어 血清中 GOT의 活性化도는 CCl₄ 投與한 對照群이 正常群에 비해 2日에서 最大의 增加를 보였고 時日이 經過함에 따라 減少되었으며, 檢體 S-I 投與群이 4, 6, 8日에 GOT活性化도는 116±8.8, 100.5±2.8, 86.0

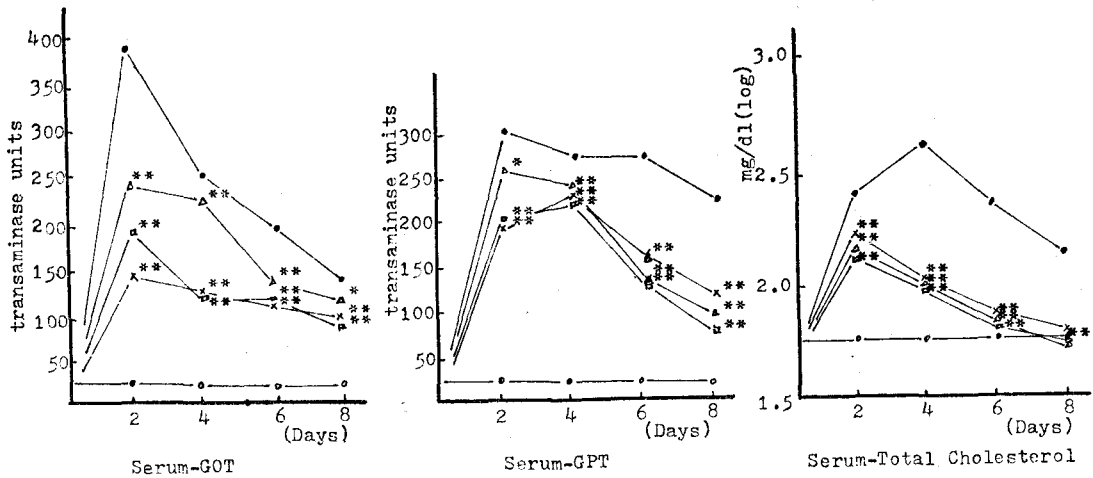


Fig. 2. Effect of CCl₄ and "Saengkankunbi-Tang" on GOT, GPT and total cholesterol activity in serum of rabbits.

—○— Normal 0.9%-saline 2ml/kg P.O. —□— Sample II 500mg/kg P.O.
 —●— Control CCl₄ total 200mg/kg I.S. —△— Sample III 500mg/kg P.O.
 —×— Sample I 500mg/kg P.O.
 Significant: *:p<0.05. **:p<0.01.

±13.2units이었다(Fig. 2).

血清中 GPT의 活性度는 家兎에 對하여 CCl₄를 投與한 對照群은 正常群에 比하여 投與 2日에 GPT值가 最大의 增加를 나타내었고 점차 時日이 經過됨에 따라 減少를 보였으며, 檢體 S-I, S-II 投與群에서는 4일에 最大値를 나타내었으며, 6日부터는 크게 減少效果를 나타내어 8日에는 正常値와 類似하게 恢復되었다. 檢體 S-I 投與群은 6, 8日에 p<0.01의 有意性을 나타내었으며 檢體 S-II, S-III 投與群에서도 類似한 效果를 보였다(Fig. 2).

血清中 total cholesterol 含量은 CCl₄ 投與한 對照群이 正常群에 比해 4日에서 最大의 增加를 보였으며 점차 時日이 經過함에 따라 減少되었다. 檢體 S-I 投與群의 含量은 4, 6, 8日에 102.0±11.0, 73.8±1.7, 55.6±3.6mg/dl를 나타내었다(Fig. 2, Table I).

血清中の albumin 및 total protein 含量은 正常値에 比하여 2日에 最大의 減少를 나타내었고 점차 時日이 經過함에 따라 增加를 보였으며, 檢體 S-I 投與群은 4, 6, 8日에 albumin含量은 3.46±0.11, 3.54±0.09, 3.74±0.11g/dl이며,

Table I. Effect of CCl₄ and "Saengkankunbi-Tang" on total cholesterol contents in Serum of Rabbits. (mg/dl)

Group	Number of animal	Dose g/kg	Time course of total cholestrol contents			
			2	4	6	8 (Days)
Normal	5		56.4± 1.2	56.4± 1.2	56.4± 1.2	56.4± 1.2
Control (CCl ₄)	5		237.4± 3.5	385.7±20.6	221.9±13.3	134.8±21.4
Sample-I	5	0.5	159.8±13.2**	102.0±11.0**	73.8±1.7**	55.6± 3.6**
Sample-II	5	0.5	127.6±14.3**	94.5±19.6**	60.4±1.0**	53.7± 2.4**
Sample-III	5	0.5	136.6±12.4**	95.8±10.7**	68.0±7.4**	53.5± 5.0**

Normal: 0.9%-saline 2ml/kg P.O. Control: CCl₄ total 200mg/kg I.S.
 All values are mean±S.E. Significant: **: p<0.01.

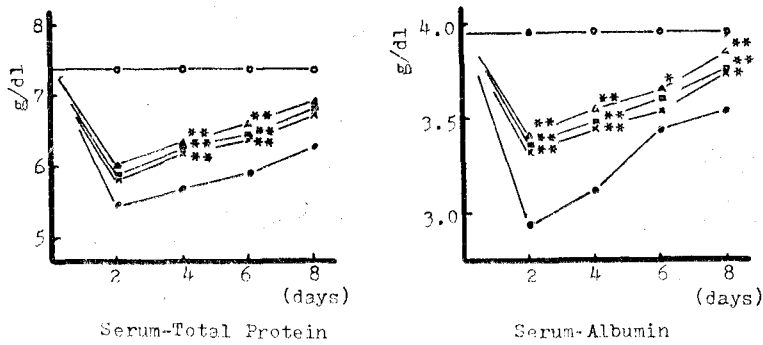


Fig. 3. Effect of CCl₄ and "Saengkankunbi-Tang" on total protein and albumine in serum of rabbits.

—○— Normal 0.9%-saline 2ml/2kg P.O. —□— Sample-I 500mg/kg P.O.
 —●— Control CCl₄ total 200mg/kg I.S. —△— Sample-I 1000mg/kg P.O.
 —×— Sample-I 250mg/kg P.O. Significant: *:p<0.05. **:p<0.01.

Table II. Effect of CCl₄ and "Saengkankunbi-Tang" on BSP remainder in serum of rabbit (mg/dl)

Group	Number of animal	Dose g/kg	Time course of serum BSP remainder			
			2	4	6	8 (Days)
Normal	5		0.19±0.05	0.18±0.05	0.18±0.01	0.19±0.02
Control (CCl ₄)	5		8.90±1.10	4.00±0.05	1.50±0.70	0.23±0.05
Sample I	5	0.25	1.70±0.80**	0.92±0.48**	0.40±0.10**	0.23±0.06
Sample I	5	0.50	1.24±0.56**	0.84±0.46**	0.48±0.42**	0.19±0.10
Sample I	5	1.50	0.80±0.10**	0.45±0.05**	0.16±0.06**	0.07±0.01**

BSP (Bromsulferphthalein): 10mg/kg I.V. Normal: 0.9%-Saline 2ml/kg P.O.
 Control: CCl₄ Total 200mg/kg I.S. All values are mean±S.E. Significant: **:p<0.01.

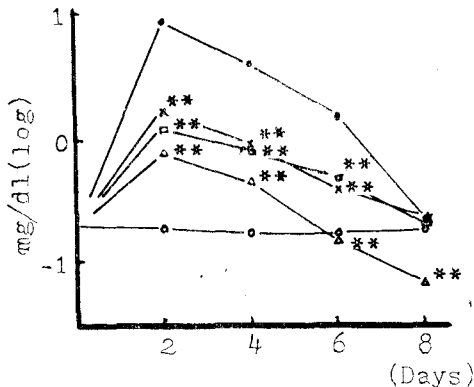


Fig. 4. Effect of CCl₄ and "Saengkankunbi-Tang" on BSP residue in serum of rabbits.

—○— Normal 0.9%-saline 2ml/kg P.O.
 —●— Control CCl₄ total 200mg/kg I.S.
 —×— Sample-I 250mg/kg P.O.
 —□— Sample-I 500mg/kg P.O.
 —△— Sample-I 1000mg/kg P.O.
 Significant: *:p<0.01.

total protem 含量은 6.22±0.14, 6.44±0.09, 6.78±0.10g/dl를 나타내었다(Fig. 3).

CCl₄로 肝損傷을 誘發시킨 家兎에 對하여 bromsulfophthaleim (BSP)를 投與시켜 膽汁과 함께 流出하고 殘溜한 血中 BSP를 測定한 結果, 正常群에 比하여 2日에 가장 많은 殘溜를 보였고 檢液 0.25g/kg, 0.5g/kg投與群은 8日에 正常으로 恢復되었으으며, 檢液 1.0g/kg 投與群은 6日부터 正常으로 恢復되었었다(Fig. 4, Table II).

考察 및 結果

肝損傷으로 인한 代謝機能의 低下에 對하여는 各種 酵素의 活性度를 測定하는 것이 널리 알려져 있다.

CCl₄로 肝損傷을 誘發시킨 對照群 血清中の

GOT, GPT 및 total cholesterol 함량에 比하여 檢液投與群에 있어서는 顯著한 抑制效果를 나타내었으며 GOT에 있어서는 檢體 S-I, S-II 0.5g/kg 投與群이 類似한 效果를 나타내었고 4일부터 크게 減少效果를 나타내었다. GPT에 있어서는 檢體 S-I, S-II, 0.5g/kg 投與群이 서로 類似한 效果를 보였으며 6日 부터 크게 減少를 나타내었고 8日에 거의 正常을 나타내었다. 總 cholesterol은 檢液群이 거의 비슷한 抑制를 나타냈으며 2日에 最大值를 나타내었다가 점차 減少되어 8日에는 正常値와 類似한 結果를 나타내었다.

檢液群은 肝損傷으로 인한 代謝機能의 低下로 GOT, GPT, 總 cholesterol의 增加에 對하여 抑制效果가 認定되었고 血清中 total protein, albumin 含量은 低下되었으며 時間이 經過함에 따라 서 점차 恢復되었다.

膽汁과 함께 流出하고 殘溜한 血中 BSP를 測定한 結果, $p < 0.01$ 의 有意性을 나타내어 膽汁分泌의 促進作用이 認定되었다.

以上과 같은 生化學的 實驗의 結果를 綜合한

바 生肝健脾湯은 肝臟疾患의 治療에 應用될 수 있다고 思料된다.

本研究는 慶熙醫療院의 研究費에 依하여 이루어졌으며 이에 感謝한다.

(1982년 2월 15일 접수)

參 考 文 獻

1. 金秉雲 外: 東洋醫學, 10, 43~44 (1978)
2. 金秉雲 外: 慶熙漢醫大論文集, 1, 189~192 (1978)
3. 金秉雲 外: 東洋醫學, 16, 9-24 (1980)
4. 金井泉, 金井定光: 臨床檢査法提要, X-II, p-52 (1975)
5. Reitman, S. and Frankel, S.: *Am. J. Clin. Path.*, 28, 56-63 (1957)
6. Allain, C. et al: *Clin. Chem.*, 20, 470 (1974)
7. Richmond, W.: *Clin. Chem.*, 19, 1350 (1973)
8. 文濬典: 慶熙漢醫大論文集, 2, 1~32 (1979)
9. 柴田進, 北村元任: 日常臨床生化學定量法, 中山書店, p-24~32 (1963)
10. 近森: 日本法醫學誌, 12, 1, 74, (1957)
11. 月岡: 日藥理誌, 55, 1367 (1959)