

加味清肝湯의 效能에 關한 實驗的 研究

洪尙勳* · 李長勳* · 禹弘楨* · 金秉雲*

ABSTRACT

An experimental research of the effect of Gamichunggantang

Sang Hun Hong, O.M.D., Jang Hun Lee, O.M.D., Ph. D. Hong Jung Woo, O.M.D.,
Ph. D. and Byung Woon Kim, O.M.D., Ph. D. Dept. of Oriental Internal Medicine,
college of Oriental Medicine, Kyung Hee University

This study was performed to evaluate the effect of the Gamichunggantang on recovering from liver injury induced by d-galactosamine and α -naphthylisothiocyanate, and following results were obtained.

1. The increases of the serum GOT, GPT activities in mice induced by d-galactosamine and α -naphthylisothiocyanate were inhibited significantly by the administration of the Gamichunggantang.
2. The increases of the total cholesterol, triglyceride and blood urea nitrogen levels in mice induced by d-galactosamine and α -naphthylisothiocyanate were significantly inhibited by the administration of the Gamichunggantang.
3. The increase of the ALP activity in mice following liver injury induced by d-galactosamine and α -naphthylisothiocyanate were inhibited to an extend, but it was not significant.

* 慶熙大學校 韓醫科大學 肝系內科學教室

4. It is considered that the efficacy of the Gamichunggantang on liver cell injury depends on its concentration rate.

I. 緒 論

肝의 病證은 臧血, 疏泄, 主筋 等の 肝機能이 失常되어 나타나는데, 肝臟疾患과 關聯되는 症候로는 黃疸을 爲始하여 肝熱, 勞倦傷, 酒傷, 積聚, 脹滿 等이 있다¹⁾.

素問 刺熱篇¹⁵⁾에 “肝熱病은 小便先黃 腹痛 多臥 身熱한다”고 하였고, 平人氣象論에서 “尿黃赤 安臥者 黃疸 目黃者 曰黃疸”라 하였으며, 黃疸의 病理에 對해 內經에서는 脾所生病, 腎所生病, 肝轉之脾病이라 하였고, 張¹⁷⁾은 中景全書에서 痧熱在裡, 寒濕在裡, 蓄血 等이라 하였다. 또한 靈樞論勇篇¹⁶⁾에 “飲酒하면 氣가 上逆하여 肝浮膽橫하므로 그 常性을 잃고 酒悖가 된다”고 하였다.

加味淸肝湯은 對金飮子에 茵陳, 葛根, 赤茯苓, 草豆蔻, 乾薑을 加한 處方이다. 對金飮子は 和劑局方¹⁸⁾에 最初로 收錄되었으며 固元益氣하고 健脾進食하며 和胃祛痰하여 營衛를 調和시킨다고 하였다. 以後 酒傷症에 適用되는 代表的 方劑로 使用되어 왔으며, 柳¹²⁾, 金⁵⁾은 alcohol性 肝疾患에 肝機能 改善效果가 있음을 報告하였다.

加味 藥物中 茵陳은 淸熱利濕 退黃疸하며 利膽解熱시키며, 肝炎 膽道疾患 및 實驗的 肝損傷에 肝細胞再生 作用이 있어¹⁴⁾ 黃疸과 肝疾患에 널리 活用되고 있으며 本 處方에 20g을 加味하여 君藥이 되도록 企하였다. 葛根은 解肌退熱 生津止瀉 酒毒嘔吐 胃中鬱火를 治療하며, 赤茯苓은 利水滲

濕 健脾和中하고, 草豆蔻는 健脾燥濕 溫胃止嘔하며, 乾薑은 溫中健脾시킨다. 따라서 加味淸肝湯은 肝疾患 黃疸 및 酒傷症 等 各種 肝損傷에 治療效果가 있을 것으로 期待된다.

이와 關聯된 研究로는 金^{6,7)}은 生肝健脾湯을 慢性肝炎 3,136例에 對한 治療效果를 報告하였고, 이 밖에도 CCl₄ 혹은 d-galactosamine로 誘發된 實驗的 肝損傷에 對한 各種 藥物의 效果^{4,8,10)}, alcohol性 肝損傷 關한 實驗的 研究 等이 있었으며^{11,12,13)} 많은 藥劑에서 肝損傷 回復 및 肝細胞 保護效果가 있다고 報告하였다.

이에 著者는 加味淸肝湯이 d-galactosamine, α-naphthylisothiocyanate로 誘發된 肝損傷에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 血清 中の Transaminase, Alkaline phosphotase, Total cholesterol, Triglyceride, Blood Urea Nitrogen 等の 生化學的 變化를 各各 觀察하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料 및 動物

1) 材料

藥材는 한방치료제의 표준화 규격³⁾에 의거하여 市中 乾材藥局에서 購入한 것을 嚴選하여 使用하였으며 加味淸肝湯의 處方內容은 아래와 같다.

茵陳 (Artemisiae capillaris Herba)	20.00g
葛根 (Puerariae Radix)	12.00g
陳皮 (Aurantii Nobilis Pericarpium)	12.00g
赤茯苓 (Hoelen)	6.00g
蒼朮 (Atractlodis Rhizoma)	6.00g
厚朴 (Magnoliae Cortex)	6.00g
草豆蔻 (Alpiniae Katsumadai Fructus)	6.00g
乾薑(柁) (Zingiberis Rhizoma)	6.00g
甘草 (Glycyrrhizae Radix)	6.00g
Total amount : 80.00g	

한作用
 생쥐 1群을 6마리로 하여 d-galactosamine 400mg/Kg을 생쥐의 腹腔內에 投與하고 24時間 後에 ether로 가볍게 麻醉한 後 心臟採血하였다. 檢液 1000mg/kg과 500mg/kg을 d-galactosamine投與 30分前과 8時間 後에 각각 經口投與하였으며 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg을 經口投與하여 比較觀察하였다. 採血한 血液은 常溫에서 放置한 後 4,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 血清을 分離하였다. 이 血清을 利用하여 血清成分 및 血清酵素活性度를 測定하였고 對照群에서 生理食鹽水를 經口投與하였다.

2) 動物
 體重 16-20g 中央動物 ICR계 생쥐(♂)를 使用하였으며, 飼料로는 삼양유지사료(株)의 固形飼料로 飼育하였고, 물은 充分히 供給하였다. 實驗은 實驗動物을 實驗室 環境에 2週日間 順應시킨 後에 使用하였고, 特別한 條件이 없는 限 24±2℃에서 實施하였다.

2. 方法

1) 檢液의 調製
 加味淸肝湯 10貼 分量 800g을 5000ml round flask에 넣고 3000ml의 精製水를 加하여 冷却器를 附着하고 2時間씩 2回 加熱抽出한 後 濾過한 濾液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 後 40℃ 減壓乾燥器에서 完全乾燥시켜 各 粘粗性 抽出物 160.4g(收率 20.1%)을 얻어 이 實驗에 必要로 하는 濃度로 稀釋하여 使用하였다.

3) ANIT 誘發 肝障害^{38,42)}에 對한 作用
 생쥐 1群을 6마리로 하여 α-naphthylisothiocyanate(ANIT) 150mg/Kg이 되도록 oilv oil에 溶解하여 생쥐의 腹腔內에 投與하고 24時間 後에 ether로 가볍게 麻醉한 後 心臟採血하였다. 檢液 1000mg/kg과 500mg/kg을 ANIT投與 30分前과 8時間 後에 각각 經口投與하였으며 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg을 經口投與하여 比較觀察하였다. 採血한 血液은 常溫에서 放置한 後 4,000rpm에서 10分間 遠心分離하여 血清을 分離하였다. 이 血清을 利用하여 血清成分 및 血清酵素活性度를 測定하였고 對照群에서 生理食鹽水를 經口投與하였다.

4) 血清中 酵素活性度 測定
 (1) 血清中 Transaminase(GOT & GPT) 活性度 測定
 血清 transaminase 活性的 測定은

2) D-Galactosamine 誘發 肝障害^{41,45)}에 對

Reitmann-Frankel법⁴⁰⁾에 準하여 GOT & GPT 測定用 試藥(아산제약주식회사)를 使用하여 測定하였다.

(2) 血清中 alkaline phosphatase 活性度 測定

血清中 alkaline phosphatase(ALP) 活性度는 Kind-King³⁷⁾의 酵素比色法에 準하여 ALP-S kit試藥(아산제약주식회사)을 使用하여 測定하였다.

5) 血清成分 分析

(1) 血清中 Total cholesterol 含量 測定

Van Handel 等⁴⁴⁾의 酵素法에 準하여 Total cholesterol 測定用 kit試藥(아산제약주식회사)을 使用하여 測定하였다.

(2) 血清中 Triglyceride 含量 測定

血清中 triglyceride 含量의 測定은 C. ALLain 等^{30,43)}의 酵素比色法에 따라 中性脂肪 測定用試液 Cleantech TG-S kit(아산제약주식회사, 韓國)를 使用하여 測定하였다.

(3) 血清中 Blood Urea Nitrogen 含量 測定

血清中 Blood Urea Nitrogen(BUN) 含量의 測定은 urease-indophenol법³²⁾에 準하여 BUN 測定用 kit試藥(아산제약주식회사)를 使用하여 測定하였다.

Ⅲ. 結 果

1. D-galactosamine 誘發 肝障害에 對한 抑制 效果

1) 血清中 Transaminase 活性度에 미치는 效果

생쥐에서 d-galactosamine 非處置群의 血清

中 GOT活性은 40.0 ± 3.15 Karmen unit에 비하여 d-galactosamine 處置 對照群은 180.8 ± 7.34 Karmen unit로 352.0%의 增加를 보여 $P < 0.001$ 의 有意한 GOT活性의 增加를 보였다. 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서는 86.0 ± 6.60 Karmen unit로 $p < 0.001$ 의 有意한 GOT活性 上昇抑制效果를 나타내며 檢液 500mg/kg 投與群은 142.8 ± 12.6 Karmen unit로 $p < 0.05$ 의 有意한 GOT活性 上昇抑制效果를 나타내었다. 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 81.2 ± 9.41 Karmen unit로 $p < 0.001$ 의 有意한 上昇抑制效果가 認定되었다(Table I).

또한 血清中 GPT活性은 d-galactosamine 非處置 正常群의 15.8 ± 1.30 Karmen unit에 비하여 d-galactosamine 處置 對照群은 32.5 ± 1.98 Karmen unit로 105.7%의 增加를 보여 $P < 0.001$ 의 有意한 GPT活性의 上昇效果를 보였다. 檢液 1000mg/kg 投與群은 25.7 ± 1.35 Karmen unit로 對照群에 비하여 $p < 0.05$ 의 有意한 GPT活性 上昇抑制效果가 認定되었다. 檢液 低用量 500mg/kg 投與群은 28.3 ± 1.07 Karmen unit로 對照群에 비하여 上昇을 抑制하는 效果가 觀察되나 有意差는 認定되지 않았다. 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 24.8 ± 1.52 Karmen unit로 $p < 0.05$ 의 有意한 抑制效果가 觀察되었다(Table II).

Table I. Effect of Gamichunggan-Tang on GOT Activities on d-galactosamine-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GOT activities (Karmen unit)	Inhibition (%)
Normal	-	6	40.0±3.15 ^{a)}	-
Control	-	6	180.8±7.34 ^{###}	-
Sample	500	6	142.8±12.6 [*]	21.0
Sample	1000	6	86.0±6.60 ^{***}	52.4
Silymarin	50	6	81.2±9.41 ^{***}	55.1

a) : Mean±Standard error

: Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(*:p<0.05 and ***: p<0.001)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

Table II. Effect of Gamichunggan-Tang on GPT Activities on d-galactosamine-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GPT activities (Karmen unit)	Inhibition (%)
Normal	-	6	15.8±1.30 ^{a)}	-

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	GOT activities (Karmen unit)	Inhibition (%)
Control	-	6	32.5±1.98 ^{###}	-
Sample	500	6	28.3±1.07 [*]	12.9
Sample	1000	6	25.7±1.35 [*]	20.9
Silymarin	50	6	24.8±1.52 [*]	23.6

a) : Mean±Standard error

: Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(*:p<0.05)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

2) 血清中 Alkaline phosphatase(ALP) 活性度에 미치는 效果

생쥐에서 d-galactosamine 非處置群의 血清中 ALP活性은 16.8±1.01 King-Armstrong unit에 비하여 d-galactosamine 處置 對照群은 35.3±2.47 King-Armstrong unit로 110.1%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 ALP活性的 增加를 보였다. 檢液 高用量 1000mg/kg 및 低用量 500mg/kg 投與群에서 檢液投與로 ALP活性度에는 別다른 影響을 주지 못하였다. 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 28.0±1.92 King-Armstrong unit로 p<0.05의 有意한 ALP上昇抑制效果가 認定되었다(Table III).

3) 血清中 Total cholesterol 含量에 對한 效果

생쥐에 d-galactosamine 處置하면 血清 中 total cholesterol의 含量이 顯著하게 增加하며 d-galactosamine 非處置 正常群의 120.2±7.14mg/dl에 비하여 274.8±8.26mg/dl로 128.6%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 500mg/kg 및 1000mg/kg 投與群에서 각각 222.7±3.99mg/dl과 207.7±11.3mg/dl로 p<0.001의 有意性이 있는 血清 中 Total Cholesterol 上昇을 抑制시켰다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 169.5±5.75mg/dl로 p<0.001의 有意한 抑制效果가 觀察되었다(TableIV).

4) 血清 中 Triglyceride 含量에 對한 效果

생쥐에 d-galactosamine 處置하면 血清 中의 triglyceride 含量은 顯著하게 增加하며 d-galactosamine 非處置 正常群의 114.3±9.50mg/dl에 비하여 217.8±10.7mg/dl로 99.6%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 500mg/kg 및 1000mg/kg 投與群에서 각각 161.0±8.62mg/dl과 139.8±12.9mg/dl로 p<0.01의 有意性이 있는 血清 中 triglyceride 含量의 上昇을 抑制시켰다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 98.3±7.18mg/dl로

TableⅢ. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Alkaline phosphatase(ALP) Activities on d-galactosamine-Induced Experimental Liver Injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	ALP (King-Armstrong unit)	Inhibition (%)
Normal	-	6	16.8±1.01	-
Control	-	6	35.3±2.47	-
Sample	500	6	37.3±2.09	-5.7
Sample	1000	6	34.2±3.16	8.3
Silymarin	50	6	28.0±1.92	24.9

a) : Mean±Standard error

: Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(*:p<0.05)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

TableIV. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Total cholesterol levels on d-galactosamine-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	Total cholesterol levels (mg/dl)	Inhibition (%)
Normal	-	6	120.2±7.14	-

Control	-	6	274.8±8.26	###
Sample	500	6	222.7±3.99	19.0
Sample	1000	6	207.7±11.3	24.4
Silymarin	50	6	169.5±5.75	38.3

a) : Mean±Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data (***: p<0.001)
 Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

Table V. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Triglyceride levels on d-galactosamine-Induced Experimental Liver Injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	Triglyceride levels (mg/dl)	Inhibition (%)
Normal	-	6	114.3±9.50	-
Control	-	6	217.8±10.7	-
Sample	500	6	161.0±8.62	26.1

Sample	1000	6	139.8±12.9	35.8
Silymarin	50	6	98.3±7.18	54.9

a) : Mean±Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data(**: p<0.01 and ***: p<0.001)
 Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group
 p<0.001의 有意한 抑制效果가 觀察되었다 (Table V).

5) 血中 Blood Urea Nitrogen 含量에 미치는 效果
 생취에 d-galactosamine 處置하면 血清中 Blood Urea Nitrogen의 含量이 顯著하게 增加하며 d-galactosamine 非處置 正常群의 19.5±0.84mg/dl에 比하여 36.7±2.59mg/dl로 88.2%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 1000mg/kg 投與群에서는 25.0±1.41mg/dl로 p<0.01의 有意性이 있는 BUN上昇을 抑制시켰다. 檢液 低用量 500mg/kg 投與群에서는 抑制하는 傾向을 보이니 有意性이 認定되지 않았으며 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 20.3±3.45mg/dl로 p<0.01의 有意한 抑制活性을 보여 주었다(Table VI).

2. α-Naphthylisothiocyanate(ANIT) 誘發

肝障害에 對한 抑制效果

1) 血清中 Transaminase 活性도에 미치는 效果
 생쥐에 ANIT 處置하면 血清 中の transaminase 活性이 顯著하게 增加하며 ANIT 非處置 正常群의 血清中 GOT活性은 48.7±2.78 Karmen unit에 비하여 82.8±3.21 Karmen unit로 70.0%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 GOT活性의 增加를 보였다. 檢液 500mg/kg 및 1000mg/kg 投與群에서 60.2±2.94와 54.3±7.42 Karmen unit로 각각 p<0.01의 有意한 GOT上昇抑制效果를 觀察할 수 있었다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 48.0±1.94 Karmen unit로 p<0.001의 有意한 上昇抑制效果가 認定되었다 (TableVII).

또한, 血清中 GPT活性은 ANIT 非處置 正常群의 15.3±0.87 Karmen unit에 비하여 ANIT 處置 對照群의 31.0±4.01 Karmen unit로 102.6%의 增加를 보여 P<0.01의 有意한 GPT活性의 上昇效果를 보였다. 檢液 1000mg/kg 投與群은 20.6±1.89 Karmen unit로 對照群에 비하여 p<0.05의 有意한 血清中 GPT活性

TableVI. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Blood Urea Nitrogen (BUN) levels on d-galactosamine-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg p.o.)	No. of animals	Serum BUN levels (mg/dl)	Inhibition (%)
--------	-------------------	----------------	--------------------------	----------------

			a)	
Normal	-	6	19.5±0.84	-
			###	
Control	-	6	36.7±2.59	-
Sample	500	6	37.8±4.23	-3.0
			**	
Sample	1000	6	25.0±1.41	31.9
			**	
Silymarin	50	6	20.3±3.45	44.7

a) : Mean±Standard error

: Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(**: p<0.01)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

TableVII. Effect of Gamichunggan-Tang on GOT Activities on α-Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	GOT activities (Karmen unit)	Inhibition (%)
			a)	
Normal	-	6	48.7±2.78	-
			###	
Control	-	6	82.8±3.21	-
			**	

Sample	500	6	60.2±2.94	27.3
			..	
Sample	1000	6	54.3±7.42	????4

Silymarin	50	6	48.0±1.94	42.0

a) : Mean±Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data (*:p<0.05 and **: p<0.01)
 (**:p<0.05 and ***: p<0.001)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

TableVIII. Effect of Gamichunggan-Tang on GPT Activities on α -Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	GPT activities (Karmen unit)	Inhibition (%)
Normal	-	6	15.3±0.87	-
			a)	
Control	-	6	31.0±4.01	-
			###	
Sample	500	6	20.7±2.59	31.2
			.	
Sample	1000	6	20.6±1.89	33.5

Silymarin	50	6	17.5±1.33	43.5
-----------	----	---	-----------	------

a) : Mean±Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###:p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data(*:p<0.05 and ** : p<0.01)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

上昇抑制效果가 인정되었다. 檢液 低用量 500mg/kg 投與群은 28.3±1.07 Karmen unit로 對照群에 비하여 上昇을 抑制하는 傾向이 觀察되나 有意差는 認定되지 않았다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 17.5±1.33 Karmen unit로 p<0.01의 有意한 抑制效果가 觀察되었다(TableVIII).

2) 血清中 Alkaline phosphatase(ALP) 活性 度에 미치는 效果

생쥐에서 ANIT 非處置群의 血清中 ALP活性은 15.7±1.39 King-Armstrong unit에 비하여 ANIT 處置 對照群은 58.5±0.66 King-Armstrong unit로 272.6%의 增加를 보여 P <0.001의 有意한 ALP活性의 增加를 보였다. 檢液 高用量 1000mg/kg 및 低用量 500mg/kg 投與群에서 檢液投與로 ALP活性度에는 別다른 影響을 주지 못하였다. 陽性比較藥物로 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 23.3±0.73 King-Armstrong unit로 p<0.001의 有意한 ALP上昇

抑制效果가認定되었다(Table IX).

3) 血清中 Total cholesterol 含量에 對한 效果

생쥐에 ANIT 處置하면 血清中 total cholesterol의 含量이 顯著하게 增加하며 ANIT 非處置 正常群의 86.7±4.07mg/dl에 비하여 193.8±5.92mg/dl로 123.5%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 1000mg/kg 投與群에서 155.0±2.97mg/dl로 p<0.001의 有意성이 있는 血清中 Total cholesterol 上昇을 抑制시켰다. 반면에 低用量 投與群에서는 別다른 影響을 주지 못하였다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 118.0±5.19mg/dl로 p<0.001의 有意한 抑制效果가 觀察되었다(Table X).

4) 血清中 Triglyceride 含量에 對한 效果

생쥐에 ANIT 處置하면 血清中의 triglyceride 含量은 顯著하게 增加하며 ANIT 非處置 正常群의 82.0±2.93mg/dl에 비하여 187.7±4.28mg/dl로 128.9%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 500mg/kg 및 1000mg/kg 投與群에서 각각 172.3±2.81mg/dl과 154.0±10.9mg/dl로 p<0.05의 有意성이 있는 血清中 triglyceride 含量의 上昇을 抑制시켰다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 110.2±7.10mg/dl로 p<0.001의 有意한 抑制效果가 觀察되었다(Table X I).

5) 血中 Blood Urea Nitrogen 含量에 미치는 效果

생쥐에 ANIT 處置하면 血清中 Blood Urea Nitrogen의 含量이 顯著하게 增加하며 ANIT 非處置 正常群의 26.5±1.76mg/dl에 비하여 43.7±1.02mg/dl로 64.9%의 增加를 보여 P<0.001의 有意한 上昇을 보였으며 檢液 1000mg/kg 投與群에서는 35.7±1.24mg/dl로 p<0.01의 有意성이 있는 BUN 上昇을 抑制시켰다. 檢液 低用量 500mg/kg 投與群에서는 別다른 影響을 주지 못하였다. 陽性比較藥物 silymarin 50mg/kg 投與群에서는 32.7±1.19mg/dl로 p<0.001의 有意한 抑制活性을 보여 주었다(Table X II).

Table IX. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Alkaline phosphatase(ALP) Activities on α -Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	ALP (King-Armstrong unit)	Inhibition (%)
Normal	-	6	15.7±1.39	-
Control	-	6	58.5±0.66	-
Sample	500	6	60.2±1.88	-2.9
Sample	1000	6	57.0±0.94	2.6
Silymarin	50	6	23.3±0.73	60.2

a) : Mean ± Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###: p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data(***: p<0.001)
 Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

Table X. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Total cholesterol levels on α-Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	Total cholesterol levels (mg/dl)	Inhibition (%)
Normal	-	6	86.7±4.07 ^{a)}	-
Control	-	6	193.8±5.92 ^{###}	-
Sample	500	6	182.2±4.47 ^{***}	6.0
Sample	1000	6	155.0±2.97 ^{***}	20.0
Silymarin	50	6	118.0±5.19 ^{***}	39.1

a) : Mean ± Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###: p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data(***: p<0.001)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

Table X I. Effect of Gamichunggan-Tang on Serum Triglyceride levels on α-Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	Triglyceride levels (mg/dl)	Inhibition (%)
Normal	-	6	82.0±2.93 ^{a)}	-
Control	-	6	187.7±4.28 ^{###}	-
Sample	500	6	172.3±2.81 [*]	8.2
Sample	1000	6	154.0±10.9 ^{***}	18.0
Silymarin	50	6	110.2±7.10	41.3

a) : Mean ± Standard error
 # : Statistically significant compared with normal data(###: p<0.001)
 * : Statistically significant compared with control data(*: p<0.05 and ***: p<0.001)
 Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

Table XII. Effect of Gamichunggan-Tang

on Serum Blood Urea Nitrogen(BUN) Levels on α -Naphthylisothiocyanate-Induced Experimental Liver injury in Mice

Groups	Dose (mg/kg.p.o.)	No. of animals	Serum BUN levels (mg/dl)	Inhibition (%)
Normal	-	6	26.5±1.76	-
Control	-	6	43.7±1.02	-
Sample	500	6	46.3±1.56	-5.9
Sample	1000	6	35.7±1.24	18.3
Silymarin	50	6	32.7±1.19	25.2

a) : Mean±Standard error

: Statistically significant compared with normal data(###: p<0.001)

* : Statistically significant compared with control data(**: p<0.01 and ***: p<0.001)

Sample : Extract of Gamichunggan-Tang treated group

IV. 考 察

肝臟은 疏泄과 臧血을 主하고, 人體內 糖質·脂質·蛋白質·膽汁代謝·비타민 等 各種 代謝機能

의 中樞器官이 되며, 藏血機能을 통해 血液調節 破血 造血機能을 행하고, 內外因에 의한 有毒物質을 解毒하는 臟器이다. 肝臟病과 聯關된 病證은 黃疸, 酒傷, 脇痛, 積聚, 脹滿 等이다¹⁾. 臨床에서 肝疾患은 黃疸 酒傷 積聚 脹滿에서 자주 나타나는 데, 本 實驗에 使用한 加味淸肝湯은 黃疸을 主治하는 茵陳을 爲始하여, 酒傷 및 勞倦傷에 多用되는 陳皮 蒼朮 厚朴 茯苓 草豆蔻 乾薑 甘草로 構成 되었다.

茵陳은 味苦, 性平微寒하여 淸熱利濕 退黃疸하고 利膽 解熱 血清의 cholesterol 降下시킨다²⁾. 韓³⁴⁾은 우리나라産 茵陳蒿의 기스를 개에 투여하여 利膽효과를 확인했고, 賀²⁸⁾, 裴³⁹⁾等은 黃疸의 治療作用이 cytochrome p-450의 活性化에 起因한다고 했고, Yamahara⁴⁷⁾等은 日本産 茵陳蒿가 顯著한 利膽效果 抗炎 鎮痛 利尿作用이 있으며, 金⁹⁾等은 膽汁分泌가 增加하는 것은 肝組織 Canalicular membrane에 있는 Na⁺·K⁺-ATPase의 活性化에 따라 Na⁺이온의 能動的 移動이 促進되는 膽汁酸 非依存性 分泌의 亢進됨을 報告했다.

葛根은 味甘辛 性平하여 解肌退熱 透疹 生津止瀉 滋潤筋脈하고 冠狀動脈의 擴張, 腦血量 增加시키며²⁾, β 수용체 遮斷作用 血壓 調節作用 平滑筋 解肌作用이 있어 高脂血症을 治療^{21,26)}한다고 하였다. 陳皮는 味辛苦, 性溫하여 理氣健脾 燥濕化痰하여 祛痰 健胃 整腸시킨다²⁾. 茯苓은 味甘, 性平 利水滲濕 健脾和中 寧心安神하고 利尿 鎮靜作用이 있으며²⁾, 陳²⁷⁾等은 抗炎 抗腫瘤 白血球 增加作用이 있다고 했다. 蒼朮은 味苦辛, 性溫하여

燥濕健脾 祛風濕하고 利尿 鎮靜 血糖降下한다²⁾. 厚朴은 味苦辛 性溫하여 燥濕除滿 行氣降逆하고 健胃 鎮痙의 效果²⁾가 있으며, 唐²⁰⁾은 實驗的으로 誘發된 病毒性 肝炎을 回復시켜 肝實質 損傷을 막는다고 했다. 草豆莢는 味辛, 性溫하여 健脾燥濕 溫胃止嘔하고 止瀉 收斂作用이 있고²⁾, 沈²²⁾은 厚朴, 草豆莢를 投與하여 病毒性 肝炎 治療效果를 報告했다. 乾薑은 味大辛, 性大熱하여 溫中 回陽 溫肺化痰하고 昇壓 血液循環 促進作用이 있다²⁾. 張²⁴⁾等은 小鼠의 KCN中毒에 乾薑投與는 쥐의 生存 活動期間을 延長시킨다고 했다. 甘草는 味甘, 性平하고 補脾益氣 清熱解毒 潤肺止咳하고 解毒 鎮痙 胃酸分泌抑制 亢炎症作用이 있으며²⁾, 譚¹⁹⁾等은 小鼠에서 肝의 cytochrome p-450의 含量 增加를 誘導한다고 했으며, 王²³⁾은 甘草根에서 抽出한 Glycyrrhiza flavonoids가 CCl₄中毒된 小鼠의 肝細胞壞死를 防止하고 血清 GPT, LDH活性 增加抑制作用을 報告했다.

이에 著者는 加味清肝湯이 d-galactosamine, α -naphthylisothiocyanate로 誘發된 생쥐의 肝障害 抑制活性에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 血清中の Transaminase, Alkaline phosphatase, Total cholesterol, Triglyceride, Blood Urea Nitrogen 등의 生化學的 變化를 比較 觀察하였다.

D-galactosamine을 投與하면 d-galactosamine은 代謝過程에서 uridine diphosphatide hexosamin 形成 및 UDP-hexosamine을 生成하여 이것이 肝細胞에 存在하지 않기 때문에 結果的으로 肝細胞內的 UTP의 缺如를 招來하여 肝障害를 誘發하여 肝細胞는 腫大되고 細胞質內에 好鹽基質이 減少하고 甚하면

消失되며 肝細胞는 空泡變性되고 Kupffer's cell이 增加된다고 報告되어져 있다^{25,31,35,36,46)}. 張²⁵⁾等은 中藥 "863"으로 d-galactosamine에 損傷된 肝細胞의 蛋白質 合成增加 및 血清 GPT 減少하며 代謝機能을 亢進시키고 免疫機能을 增強시킨다고 했고 朴¹⁰⁾은 d-galactosamine 誘發 肝障害에 茵陳四苓散의 血清 GOT, GPT 上昇抑制效果를 報告하였다. 따라서, 생쥐에 d-galactosamine을 腹腔內 投與하면 正常群에 比하여 血清 中の GOT, GPT, ALP, TC, TG 및 BUN含量이 有意하게 增加됨을 알 수 있었다. 우선 transaminase 活性度를 살펴보면 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서 GOT 및 GPT의 상승은 각각 d-galactosamine 處置 對照群에 比하여 52.4%와 20.9%의 抑制效果를 보였으며 統計的으로 有意한 上昇抑制效果가 認定되었다. 반면에 ALP活性度에는 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서 8.3%로 별다른 影響을 주지 못하였다.

血清 中の total cholesterol 含量에 對하여 檢液 1000mg/kg 經口投與群에서 d-galactosamine 處置 對照群에 比하여 24.4%의 抑制率을 보여 有意한 抑制效果를 나타내며 低用量 500mg/kg 投與群에서도 19.0%의 抑制率을 보여 有意한 抑制效果를 나타냄이 認定되었다. 또한, 血清 中の triglyceride의 含量도 d-galactosamine 投與로 有意하게 上昇됨을 보여주며 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서 35.8%로 有意하게 上昇을 抑制시킴이 認定되었다. 또한 血清 中の BUN含量에 對한 影響을 살펴보면 d-galactosamine 投與로 非處置 對照群에 比하여 有意하게 上昇됨이 認定되었고 檢液 高用量 投與

群에서 31.9%의 抑制率로 有意한 上昇抑制效果가 認定되었다. 그리고 陽性對照藥物로 使用한 silymarin 投與群에서는 GOT, GPT, ALP, TG, TC 및 BUN의 血液 Parameter의 上昇을 有意하게 抑制시킴을 알 수 있었다. 또, 다른 機轉으로 肝障害를 誘發시키는 藥物로 알려져 있는 α -naphthylisothiocyanate(ANIT)을 使用하여 檢液의 肝障害 抑制活性을 評價하였다. ANIT는 主로 膽管系 細胞에 障害를 誘發시켜 膽汁鬱滯를 일으켜 血清 中の transaminase ALP, TG, TC 및 BUN이 上昇을 招來하는 것으로 알려져 있다²⁹⁾

ANIT를 생쥐의 腹腔內에 投與하므로써 有意하게 GOT, GPT, ALP, TG, TC 및 BUN 이 上昇됨을 알 수 있었고 檢液投與로 抑制活性을 比較觀察하였다. 우선 transaminase 活性은 檢液處置로 ANIT處置로 上昇된 각각의 GOT 및 GPT의 活性을 檢液 高用量 投與群에서 33.4%와 33.5%의 有意한 抑制效果가 認定되었다. 반면에 ANIT處置로 上昇된 ALP抑制效果는 檢液處置로 認定되지 않았다. 血清 脂質成分인 total cholesterol과 triglyceride 含量은 ANIT處置群에 比하여 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서 각각 20.0%와 18.0%로 有意한 上昇抑制效果가 認定되었다. 그리고 BUN含量은 檢液 高用量 1000mg/kg 投與群에서 18.3%로 有意하게 上昇을 抑制시킴을 알 수 있었고, 陽性對照藥物로 使用한 silymarin은 Polymerase A을 活性化 시켜서 肝細胞에서 蛋白質 合成을 促進시키는데 本實驗에서도 GOT, GPT, ALP, TG, TC 및 BUN의 血液 Parameter의 上昇을 有意하게 抑制시킴을 알 수 있었다.

以上の 實驗結果로 組合하여 보면 加味清肝湯의 抽出物은 d-galactosamine과 α -naphthylisothiocyanate로 誘發된 肝障害에 對하여 肝保護 效果가 있는 것으로 思料되며 朴¹⁰⁾이 d-galactosamine으로 誘發된 肝障害에 茵陳四苓散을 1000mg/kg 投與하여 GOT 및 GPT의 上昇을 각각 d-galactosamine 處置 對照群에 比하여 29.6%와 17.2%의 抑制效果를 보였으나 加味清肝湯은 52.4%, 20.9%의 抑制效果를 보여 加味清肝湯이 茵陳四苓散보다 優秀한 肝保護 效果를 推論할 수 있다. 그러나 加味清肝湯은 ALP活性 上昇抑制效果가 有意性을 찾을수 없었다. 이 處方을 構成하고 있는 茵陳, 葛根, 甘草等 이 이미 여러 研究者들에 의하여 肝保護 活性이 있는 것으로 報告³³⁾한 바 있어 優秀한 肝疾患 治療劑 開發하기 위해서는 이들 藥物의 相互作用은 물론 다른 藥物들과의 作用機轉과 活性物質에 對해서는 持續的인 研究가 遂行되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

加味清肝湯의 效能을 糾明하고자, 생쥐를 對象으로 d-galactosamine과 α -naphthylisothiocyanate로 誘發된 肝障害에 對한 肝保護 效果를 觀察하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 加味清肝湯은 d-galactosamine과 α -naphthylisothiocyanate로 誘發된 肝障害에 따른 GOT, GPT 活性의 上昇에 對하여 有意한 抑制效果를 보였다.
2. 加味清肝湯은 d-galactosamine과 α -na-

phthylisothiocyanate로誘發된 肝障害에 따른 total cholesterol, triglyceride, Blood Urea Nitrogen 活性的 上昇에 對하여 有意한 抑制效果를 보였다.

3. 加味清肝湯은 d-galactosamine과 α -naphthylisothiocyanate로誘發된 肝障害에 따른 ALP 活性을 抑制하는 傾向을 보이거나 有意性은 없었다.
4. 加味清肝湯의 效果는 濃度依存的인 것으로 나타났다.

以上の 實驗結果로 볼때, 加味清肝湯은 d-galactosamine과 α -naphthylisothiocyanate로誘發된 肝損傷에 對하여 有意한 改善效果를 보였으며, 臨床에서 肝疾患에 對하여 有效한 治療效果가 있을 것으로 思料된다.

參 考 文 獻

1. 金秉雲外 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫學研究院, pp. 164-198, 1992.
2. 李尙仁外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 62, 63, 151, 152, 156, 157, 188, 216, 217, 220, 203, 204, 324, 325, 225, 226, 1990.
3. 지형준·이상인 : 대한약전의한약(생약)규격집주해서, 서울, 한국 메디칼인텍스사, pp. 306, 354, 402, 449-452, 455, 456, 525, 526, 609, 610, 648, 649, 1990.
4. 金德鎬 : 柴胡清肝湯이 CCl₄ 中毒白鼠의 肝損傷에 미치는 影響에 關하여, 慶熙大學校 博士學位論文, 1980.
5. 金炳三 : 肝臟疾患에 對한 實驗的 및 臨床的 研究, 慶熙大學校 碩士學位論文, 1992.
6. 金秉雲外 : 生肝健脾湯이 肝臟의 代謝와 再生 機能에 미치는 影響, 東洋醫學, 22:32-57, 1982.
7. 金秉雲外 : 生肝健脾湯을 利用한 慢性肝炎의 治療, 東洋醫學, 15:9-24, 1980.
8. 金榮哲 : 加味對金飲子の 效能에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校 碩士學位論文, 1993.
9. 金柱賢外 : 茵陳蒿가 흰쥐 肝조직내 Na⁺·K⁺-ATPase活性的에 미치는 影響, 서울 大學校 生藥研究所業績集, pp 135-139, 1987.
10. 朴亨圭 : 茵陳四苓散이 急性 Alcohol, 高脂肪食 및 Galactosamine 中毒白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 慶熙大學校 碩士學位論文, 1993.
11. 禹弘楨 : 葛花解醒湯이 ETHANOL 中毒 흰쥐의 肝機能에 미치는 影響, 慶熙大學校 博士學位論文, 1983.
12. 柳基遠外 : 酒傷病에 應用되는 加味對金飲子가 Ethanol로 因한 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 慶熙漢醫大論文集, Vol.3, pp 1-14, 1980.
13. 李普炯 : 生肝湯의 效能에 關한 臨床的 研究, 慶熙大學校 碩士學位論文, 1989.
14. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典, 上海, 上海科學技術出版社, pp. 1588-1590, 1982.
15. 山東中醫學院校釋 : 黃帝內經素問校釋, 서울, 一中社, pp. 252, 414, 1980.
16. 楊維倫編 : 黃帝內經靈樞釋解, 臺北, 臺聯國

- 風出版社, p. 379, 民國65年.
17. 張仲景 : 仲景全書, 서울, 裕昌德書店, pp. 392-410, 545-547, 1961.
 18. 徽宗 : 和劑局方, 서울, 慶熙漢醫大, pp. 72-73, 1974.
 19. 譚毓治外 : 甘草對小鼠肝藥酶的影響, 中國通報, 11(10): 55-56, 1986.
 20. 唐泳 : 厚朴的研究和臨床應用, 中國中醫雜誌, 15(8): 55-56, 1990.
 21. 唐國外 : 葛根的實驗研究與臨床應用新進展, 中國中醫雜誌, 16(3): 52-55, 1991.
 22. 沈舒文 : 厚朴溫中湯治療病毒性肝炎, 新中醫, p.20, 1984年 8期.
 23. 王根生外 : 甘草類黃酮對四氯化矽致小鼠急性肝損傷的影響, 藥學學報, 28 (8): 572-576, 1993.
 24. 張明發外 : 乾薑對缺氣和受寒小鼠的影響, 中國中醫雜誌, 16(3):170-170, 1991.
 25. 張穎外 : 中藥“863”對D-氣基半乳糖肝損傷治療作用的形態學, 生化學, 實驗研究, 北京中醫學報, 16(2): 55-59, 1993.
 26. 陳妙華外 : 葛根化學成分的研究, 中國通報, 10(6): 34-36, 1985.
 27. 陳定南外 : 茯苓多糖抗腫瘤及其有關藥理作用, 中國通報, 12(9): 41-43, 1987.
 28. 賀平外 : 茵陳對小鼠肝藥酶的影響, 中國中醫雜誌, 15(6):52, 1990.
 29. 福本楊平 : 肝臟, 19, 647(1978)
 30. C. Allain : Enzymatic determination of total cholesterol, Clin. Vhe., 20, 470, 1974.
 31. Decker, K. and Keppler, D. : Prog. Liv-
er Dis., 4, 183, 1972.
 32. Fawcett, J.K. and J.E. Scott : A rapid and precise method for the determination of urea, J.Clin. Path., 13, 156, 1960.
 33. H. Hikino: Antihepatotoxic activities of crude drugs. YAKUGAKU SASSHI., 105(2), 109, 1985.
 34. Han, D.Y.: J. Pharm. Soc. Korea, 10: 25, 1966.
 35. K. Decker and D. Keppler: Galactosamin hepatitis : key role of the nucleotide deficiency period in the pathogenesis of cell injury and cell death. Pharmacol. Rev. Physiol. Biochem. 71-77, 1974.
 36. Keppler, D., Rudigier, J., Bishoff, E. and Decker, K.: Eur. J. Biochem. 17, 246, 1970.
 37. Kind, P.R.N and King, E.J. : J. Clin. Path., 7, 322, 1954.
 38. N.Kumazawa, S.Otha, S.TU, A.Kamogawa and M.Shinoda : Protective effects of various methanol extract of crude drugs on experimental hepatic injury induced by α -naphthylisothiocyanate in rats. YAKUGAKU ZASSHI., 111(3), 199, 1991.
 39. Pae, Y.S. and Hong, Y.S.: J.Korea Res. Inst. Liv. 25:151, 1980.
 40. Reitman, S. and Framkel, S.: A color-

- metric method for the determination of serum glutamic oxalocetic acid and glutamic pyruvic transaminase, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, 56, 1957.
41. S.Maeda, K.Sudo, Y.Miyamoto, S. Takeda, M.Shinbo, M.Aburada, Y.Ikeya, H.Taguchi and M.Harada : Pharmacological studies on Schzandra Fruits. II. *YAKUGAKU-KU.*, 102(6), 579, 1982.
42. S.Ohta, N.SAto, S.Tu and M.Shinoda : Protective effects of Yaiwan crude drugs on experimental liver injuries. *YAKUGAKU ZASSHI.*, 113(3), 870, 1993.
43. Sardesa V.M. and Mannig J.A.: The determination of triglycerides in plasma and tissues, *Clin. Chem.*, 14, 156, 1968
44. Van Handel E. and Zilversmit D. B. : Micromethod for the determination of serum triglyceride, *J.Lab. and Clin. Med.*, 50, 152, 1957.
45. Y.Kiso, C.Konno, H.Hikino, I.Hashimoto and H.Wakasa : Protective action of Desoxy podophyllotoxin on d-galactosamine-induced liver lesion in rats. *Chem. Pharm. Bull.*, 30(9), 3817, 1982.
46. Y. Kiso, M. Tohkin and H. Hikino : Assay method for anti-hepatotoxic activity using galactosamine-induced cytotoxicity in primary-cultured hepatocytes, *J. Nat. Prod.*, 46, 841-847, 1983.
47. Yamahara, J., Matsuda,H., et al. : *Korea Res. Inst. Liv.* 25: 151, 1980.