

生藥複合劑의 藥効研究 (第 5 報)

黃連解毒湯이 浮腫, 腸管, 血壓, 血糖量, 總코레스테롤
含量 및 抗菌作用에 對하여

洪 南 斗 · 金 鍾 禹 · 杜 鎬 京 · 金 南 宰
慶 熙 醫 療 院

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

Effect of "Whangryonhaedok-Tang" on the Anti-inflammatory, Ileum of Mice, Blood Pressure, Blood Glucose, Total Cholesterol and Antibacterial Activity

N. D. Hong, J. W. Kim, H. K. Doo and N. J. Kim
Kyung-Hee Medical Center

In order to investigate the effect of "Whangryonhaedok-Tang" on the anti-inflammatory, ileum of mice, blood pressure, blood glucose, total cholesterol and antibacterial activity, those pharmacological actions were conducted. The results of this studies were summerized as follows;

Rat hind paw edema induced by acetic acid was inhibited.

In mice, tone of intestinal smooth muscle was suppressed with the treatment of sample and intestinal contractions induced by BaCl₂ was inhibited.

Hypertensive effect was not observed in rabbits but was observed by the water extract of "Whangryonhaedok-Tang" excluded Phellodendri Cortex in rabbits.

The increased blood glucose levels in alloxandiabetic rabbits were significantly decreased by the oral administration of the sample I after 6 days.

The total cholesterol levels in alloxan-induced rabbits were significantly decreased by the oral administration of the sample I after 9 days.

Antibacterial activity was observed.

In addition, we thought the pharmacological actions were significantly noted by the sample III (Methanol soluble fraction) because of the purification of effective components.

前報에서 黃連解毒湯이 中樞神經系에 미치는
영향에 對하여 報告한데 이어 醋酸浮腫에 對한
作用, 마우스回腸管에 對한 作用, 血壓 및 呼吸
에 미치는 影響, alloxan으로 誘發시킨 血清中의
血糖量 및 總코레스테롤 含量 및 抗菌作用 등을
檢討한 바 若干의 知見을 얻었기에 報告한다.

實 驗

가) 實驗材料 및 實驗動物

實驗材料 및 實驗動物은 特別히 明示하지 않
는 限 前報에서와 同一한 것을 使用하였다.

나) 實驗方法

1) 醋酸浮腫에 미치는 作用: 高木等¹⁾의 方法에 準하여 흰쥐의 浮腫率을 높이기 위하여 흰쥐의 重量을 130~150g으로 選定 1群을 5匹로 하여 鷄백을 各各 300mg/100g씩 30分 間격으로 2回 經口投與 1時間後에 5% 醋酸生理食鹽水液 0.1ml/Rat를 後肢足蹠에 皮下注射하고 volume difference meter (Ugo Basile Co., Italy)로 30~60分 間격으로 5時間 동안 경시적으로 後肢의 容積을 測定하고 對照藥物로 aspirin 20mg/100g 經口投與群과 浮腫增加率을 算出하여 比較觀察하였다.

$$\text{浮腫增加率} = \frac{Et - Ec}{Ec} \times 100$$

Et: 足蹠皮下注射 後의 足의 容積

Ec: 足蹠皮下注射 前의 足의 容積

2) 腸管에 對한 作用: Magnus 方法²⁾에 따라 마우스를 1夜 絶食시킨 後 撲殺시키고 回腸管을 摘出하여 절편을 만들어 Tyrode액 中에서 O₂~CO₂ gas를 계속 供給하면서 摘出腸管의 運動을 kymography 煤煙紙上에 描記시켜 檢液의 作用과 拮抗藥에 對한 作用을 관찰하였다.

3) 血壓 및 呼吸에 對한 作用³⁻⁵⁾: 家兎에 urethane 1.5g/kg을 腹腔內에 注射하여 麻醉시킨 後 常法에 따라 左側頸動脈에는 水銀 manometer에 연결한 cannula를 插入결박하고 氣管에는 呼吸 tambour에 연결한 cannula를 插入결박하여 血壓과 呼吸運動을 同時에 描記시켰다. 이 때 血壓과 呼吸運動이 一定하게 되었을 때 檢液을 家兎 耳靜脈에 注射하여 血壓과 呼吸에 對한 運動과 兩側頸部迷走神經을 切斷한 vagotomy後의 變化를 觀察하였다.^{6,7)}

4) Alloxan으로 병변을 誘發시킨 家兎 血清 中의 血糖量 및 總코레스테롤 含量測定:

i) Alloxan 및 檢液의 投與: 家兎 1群을 5匹로 하여 alloxan 投與群은 alloxan monohydrate (150mg/kg)를 1日 1回 2日間 耳靜脈으로 投與하였고 alloxan 및 檢液 投與群은 alloxan 前處置後 第3日부터 檢液을 各各 250, 50mg/kg을 1日 1回 15日까지 13日間 經口投與하였다.⁸⁾

ii) 採血 및 血清分離: alloxan 投與前 및

alloxan 投與 第3日 부터 3日 間격으로 5回에 걸쳐 耳靜脈에서 交代로 血液 2ml씩을 小型 遠心分離管에 取하고 約 1時間 放置하여 上等液이 생기기 시작할 때에 3,000rpm에서 20分間 遠心分離하여 용혈되지 않은 血清을 實驗에 使用하였다.

iii) 血糖量 測定: 酵素法에⁹⁻¹²⁾ 準하여 各 試驗管에 血清 0.02ml, 標準溶液(300mg) 0.02ml, 증류수 0.02ml를 各各 넣고 酵素溶液 4ml를 加한 後 37°C 水浴中에서 20分間 加溫하였다. 室溫에서 60分 이내 에 blank를 對照로 하여 630nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하였다.

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

Es; 檢液의 吸光度

Estd; 標準溶液의 吸光度

iv) 血清中 總코레스테롤 含量 測定: 酵素法^{13,14)}에 따라 各 試驗管에 血清 0.02ml, 標準溶液(300mg/dl) 0.02ml 및 증류수 0.02ml씩 lambda pipette로 取하여 넣고 酵素試藥 3.0ml를 各 시험관의 기막을 따라 積層시킨 後 진탕혼합한 다음 37°C 水浴上에서 20分間 加溫하고 blank를 대조로 하여 505nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하였다.

$$\text{總코레스테롤함량 (mg/dl)} = \frac{Es}{Estd} \times 300$$

Es: 檢液의 吸光度

Estd: 標準溶液의 吸光度

5) 抗菌作用

i) 使用菌株: 本 實驗에서 使用한 菌株은 다음과 같다.

- (1) *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- (2) *Escherichia coli* NIH
- (3) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P
- (4) *Sarcina lutea* ATCC 9341
- (5) *Candida albicans* YU 1200

ii) 培地: 增菌培地로는 nutrient broth(Difco)와 nutrient agar(Difco)를 使用하였으며 試驗用培地로는 Bacto Müller Hirton medium(Difco)를 使用하였다.

iii) 種菌液의 調劑: 菌株을 各各 種菌培地에 接種하였고 37°C에서 24~36時間 培養한 後 採

菌하여 生理食鹽水에 浮遊시킨 다음 菌의 濃度를 650nm에서 투과율이 50%되게 한 菌液 1ml를 Müllr Hinton agar medium 100ml에 48~50°C에서 混合하여 接種菌液으로 하였다.

iv) 試驗方法: 檢液을 滅菌蒸溜水에 ml當 150, 75, 37.5, 18.75mg이 되게 稀釋하여 disc(Toyo Seisakusho) 1枚當 10 μ l씩 吸收시켜 實驗用 平板培地에 各濃度別로 놓은 後 37 \pm 2°C에서 18時間 培養한 다음 disc 주변에 나타난 阻止帶의 크기를 測定하였다.

實驗成績

1. 醋酸 浮腫에 미치는 效果는 Fig. 1에서와 같이 5% 醋酸을 흰쥐의 後肢足蹠에 注射한 對照群은 계속 浮腫의 增加를 나타냈고, 檢液 S-I 300mg/100g 投與群은 浮腫 抑制에 아무런 影響을 미치지 못하였으나, 檢液 S-II 300mg/100g 投與群은 若干의 抑制 效果가 認定되었고, 檢液 S-III 300mg/100g 投與群에서는 aspirin 20mg/100g의 對照群과 類似한 浮腫 抑制 效果를 나타냈다.

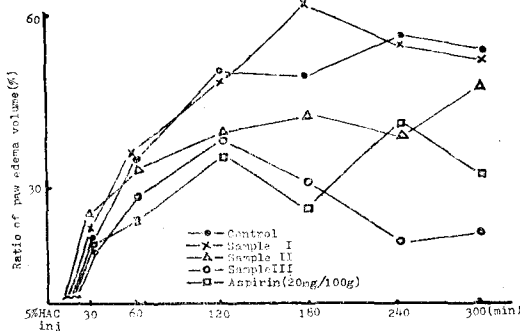


Fig. 1. Antiinflammatory effect of "Whangryon-haedok-Tang" on 5% acetic acid edema of the rat hind paws. Each sample dose is 300mg/100g.

2. 腸管에 對한 效果는 Fig. 2에 나타낸 것 과 같이 마우스摘出回腸管에 對하여 檢液 S-I, S-II, S-III 共히 弛緩性作用을 나타내었고, BaCl₂에 의한 收縮 腸管에 對하여 檢液 S-I 1 \times 10⁻⁴, 1 \times 10⁻³, 1 \times 10⁻²g/ml의 濃度增加에 따라 弛緩 效果의 增加를 나타냈다.

3. 血壓 및 呼吸에 對한 效果는 頸動脈에 水銀 manometer, 氣管에는 tambour를 同時에 연결한 家兎에 對하여 檢液 S-I 1 \times 10⁻³, 1 \times 10⁻²/ml의 投與에서는 濃度에 따라 一過性的 降下 後에 血壓 上昇의 傾向을 나타낸 반면에 黃連解毒湯에서 黃栢을 除한 檢液 1 \times 10⁻³, 1 \times 10⁻²g/ml의 投與에서는 濃度 增加에 따라 血壓 降下 現象이 나타났다. 또한 vagotomy 後에 역시 檢液 S-I 10⁻²g/ml은 血壓의 增加를 나타내었고 黃連解毒湯에서 黃栢을 除한 檢液 1 \times 10⁻³ 1 \times 10⁻²g/ml에서는 血壓 降下の 相反된 作用을 나타내었다(Fig. 3).

4. Alloxan으로 誘發시킨 血清中 血糖量 및 總 Cholesterol含量은 Table I에 나타낸 것 과 같이 家兎에 alloxan으로 病變을 誘發시킨 對照群은 alloxan 投與前 血糖值에 比하여 현저한 增加를 보였으며 S-I 250mg/kg 投與群은 6日부터 15日까지 p<0.01의 有意성이 認定되었으며 S-I 50mg/kg 投與群은 6日부터 9日까지 p<0.01의 有意성이 認定되었다.

iii) 血清中 total cholesterol 含量은 Table II와 같이 家兎에 alloxan 投與로 病變이 誘發된 對照群은 alloxan投與前 總 cholesterol에 比하여 현저한 增加를 보였으며, S-I 250mg/kg 投與群은 9日에 p<0.05의 有意성이 認定되었으며 12日부터 15日까지는 p<0.01의 有意성이 認定되었고 S-I 50mg/kg 投與群은 12日에 p<0.05 15日에 p<0.01의 有意성이 認定되었다.

5. 抗菌 效果는 實驗 菌株中 gram陽性 球菌인 *Staphylococcus aureus*와 *Sarcina lutea*에서 Sample I, Sample III은 37.5mg/ml와 18.75 mg/ml의 濃度에서 各各 發育抑制를 觀察할 수 있으나, 桿菌類와 眞菌類에서는 抗菌作用을 認定할수 없었다(Table III).

考察 및 結論

醋酸에 의한 浮腫試驗에서 檢液 S-III 300mg/100g이 현저한 抑制效果를 나타내었으며 對照群인 aspirin 20mg/100g과 類似한 浮腫抑制效果를 觀察할 수 있었다.

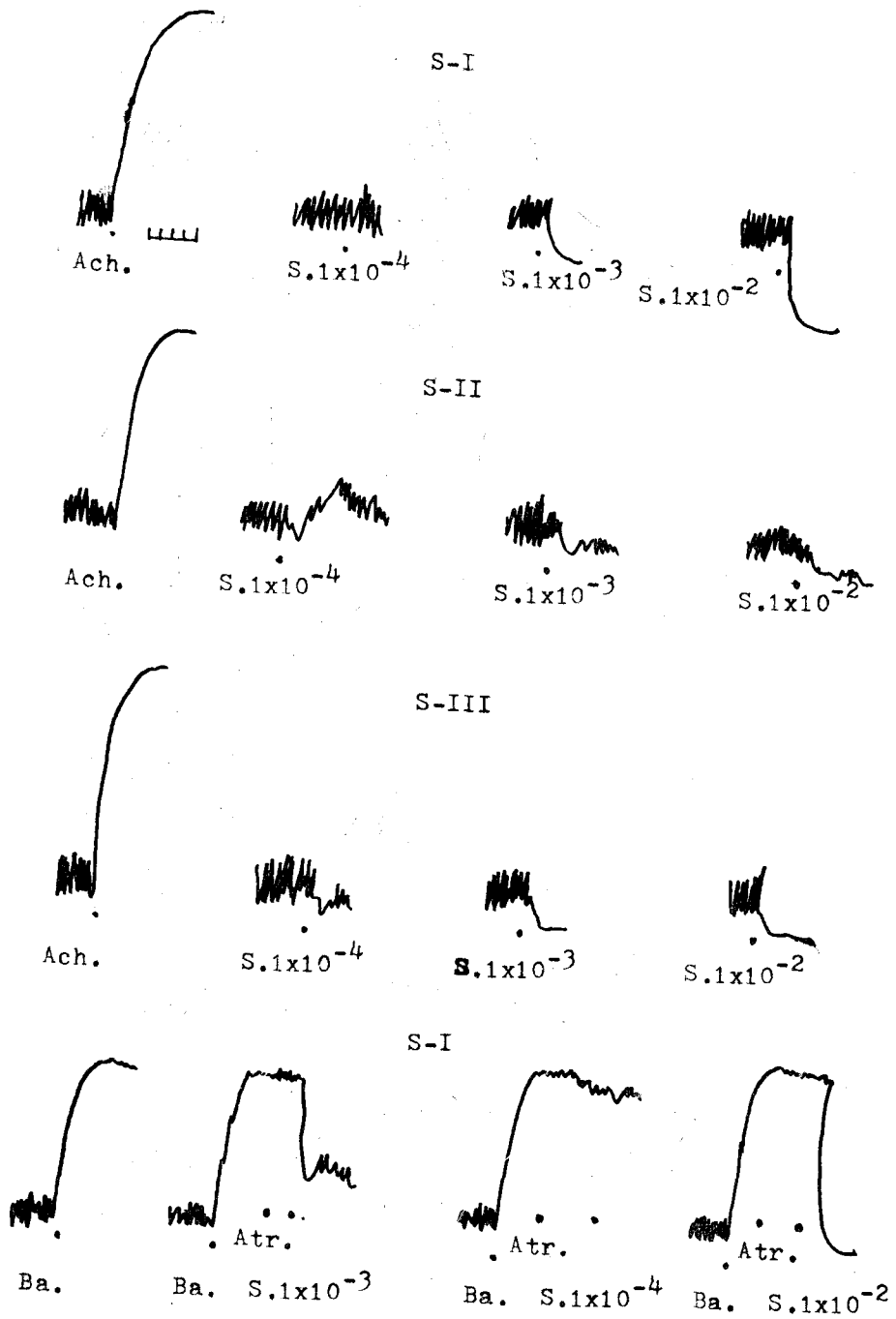


Fig. 2. Effect of "Whangryonhaedok-Tang" on ileum of mice(Magnus method)

Atr.: Atropine 1×10^{-6} g/ml.
 Ach.: Acetylcholine 1×10^{-7} g/ml.
 Ba.: BaCl₂ 3×10^{-4} g/ml.

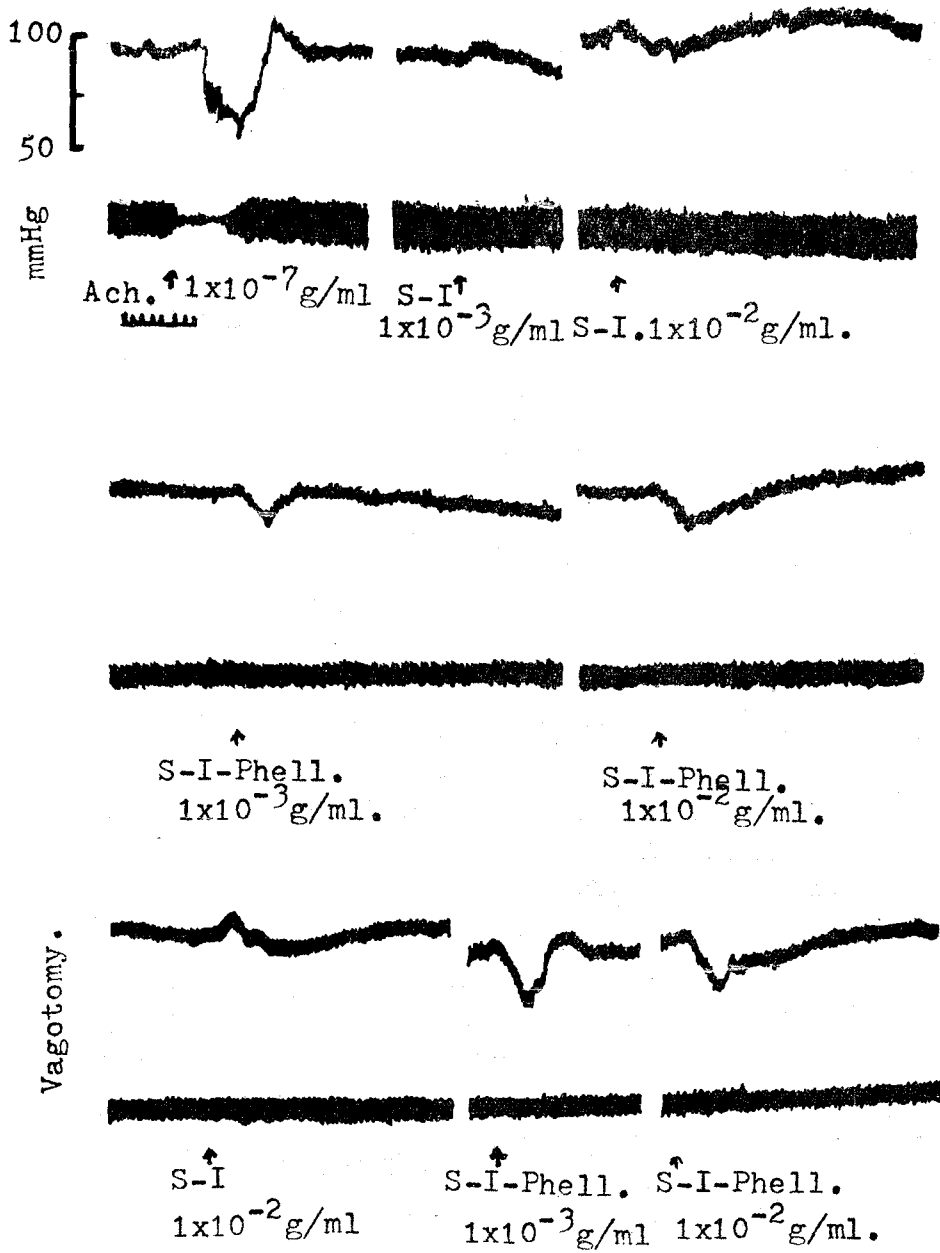


Fig. 3. Effect of "Whangryonhaedok-Tang" on the blood pressure and respiration of rabbits.

Table I. Effect of "Whangryonhaedok-Tang" on serum glucose levels in Alloxan-induced rabbits.

Compound	Number of animals	Serum glucose levels (mg/dl)					
		0	3	6	9	12	15(days)
Control (Alloxan 150mg/kg I.V.)	5	138.3 ±9.2	286.9 ±28.9	523.5 ±21.4	561.8 ±25.3	439.6 ±21.2	354.8 ±16.9
Alloxan and S- I (250mg/kg P.O.)	5	141.6 ±6.6	271.8 ±27.0	248.8 ±29.9**	189.1 ±24.0**	158.9 ±25.3**	143.3 ±18.9**
Alloxan and S- I (50mg/kg P.O.)	5	139.7 ±9.3	274.3 ±39.0	418.3 ±21.6**	427.2 ±25.0**	391.7 ±26.7*	350.4 ±29.2

O: before administration alloxan; Mean value± Standard error; Significant: **:p<0.01. *p<0.05.

Table II. Effect of "Whangryonhaedok-Tang" on serum total cholesterol levels in Alloxan-induced rabbits.

Compound	Number of animals	Serum total cholesterol levels (mg/dl)					
		0	3	6	9	12	15(days)
Control (Alloxan 150mg/kg I.V.)	5	59.3 ±7.9	119.6 ±3.3	151.6 ±12.4	162.5 ±14.8	161.4 ±8.1	136.3 ±11.3
Alloxan and S- I (250mg/kg P.O.)	5	55.5 ±9.7	122.8 ±27.1	129.1 ±15.3	122.1 ±9.5*	113.1 ±5.5**	77.4 ±6.2**
Alloxan and S- I (50mg/kg P.O.)	5	61.6 ±8.6	123.1 ±22.8	141.6 ±14.0	157.3 ±13.9	146.7 ±8.4*	88.5 ±8.9**

O: before administration Alloxan; Mean value± Standard error; Significant: **:p<0.01. *: p<0.05.

Table III. Antibacterial activity of "Whangryonhaedok-Tang" by the paper disc method.

Strain	Sample Conc.(mg/ml)	Sample I				Sample II				Sample III			
		a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> NIH		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 P		11.7	8.7	7.1	—	—	—	—	—	12.9	10.6	7.7	—
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341		20.7	18.4	13.0	9.8	—	—	—	—	28.5	25.3	19.3	12.1
<i>Candida albicans</i> YU 1200		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Results show diameter in mm of inhibitzone

a: 150mg/ml b: 75mg/ml c: 37.5mg/ml d: 18.75mg/ml

鶴見等^{15,16)}은 BaCl₂, acetylcholine과 같은腸管收縮作用에 對하여 同時에 拮抗作用을 나타내었을 때는 自律神經系에 關한 作用이 아니고 平滑筋에 關한 直接作用이라 밝힌 바 있다. 檢液이 다운스回腸管의 BaCl₂에 依한 收縮에 對하여 atropine과 對照하여 自律神經作用 與否를 檢討한 바 自律神經에는 關與하지 않았으며 筋原性弛緩作用을 確認할 수가 있었다.

血壓은 家兔 頸動脈試驗에서 檢液 S- I 1×10⁻³, 1×10⁻²g/ml의 濃度 增加에 따라 血壓上昇의 傾向을 나타내는 反面에 去黃栢黃連解毒湯 檢液은 1×10⁻³, 1×10⁻²g/ml의 濃度 增加에 따라 血壓降下의 相反作用을 나타내었으며, 兩側頸部의 迷走神經 切斷後의 血壓도 같은 樣相을 나타내었고, 呼吸 作用에는 아무런 影響을 나타내지 아니 하였다. 그러므로 黃栢의 藥理學

的作用으로서는 膽汁分泌促進作用, 抗痰作用 등이 있고 berberine成分에 의하여 血壓降下作用을 한다고 하였으나 本 比較 實驗結果 和劑作成의 重要性을 認知할 수가 있었다.

Alloxan으로 誘發시킨 家兔 血清中の 血糖量 測定 實驗은 對照群에 比하여 檢液 S-I 250mg/kg에서는 投與 6일부터 15일까지 $p < 0.01$, 檢液 S-I 50mg/kg에서는 6일부터 12일까지 $p < 0.05$ 의 有意性이 認定되어 經時的으로 抑制效果를 나타내었다. 總 cholesterol 含量은 檢液 250mg/kg은 9~15日, 檢液 50mg/kg은 12~15日 까지 經時的인 抑制效果로 $p < 0.01$ 의 有意性이 認定되어 檢液의 濃度增加에 따라 抑制效果가 增加되는 것을 알 수가 있었다.

抗菌效果는 一般炎症疾患의 原因이 되는 gram 陽性球菌의 발육을 抑制하는 것으로 보아 丹毒을 비롯한 瘡瘍에 有効하다는 文獻的 考察을 뒷받침 할 수 있는 것을 알 수가 있었다.

以上の 實驗結果를 給合考察한 바 黃連解毒湯은 抗痙攣效果, 解熱鎮痛效果, 鎮靜效果, 浮腫抑制效果, 筋原性弛緩作用, 血壓의 調整效果, 血糖抑制效果 및 抗菌作用이 認定되며 특히 檢液 S-III 分割部分에서만 效果가 強하게 나타나는 것은 有効性物質의 高濃度 精製에 依한 것으로 思料된다. 또한 黃連解毒湯 構成生藥中 黃栢을 除한 去黃栢黃連解毒湯과 作用性을 比較觀察하고자 併行實驗한 結果 處方中 黃栢의 作用에 對하여 研究되어져야 할 것으로 生覺되며 또한 漢藥의 處方構成은 生藥의 既知成分만을 갖이고

組成하는 것은 考慮되어야 할뿐만 아니라 漢藥 處方に 對하여는 先作用 後成分의 研究가 先行 되어야 한다고 思料된다.

本研究는 慶熙醫療院의 研究費의 支援으로 이루어 졌으며 이에 感謝한다.

(1982년 2월 3일 접수)

參 考 文 獻

1. 高木敬次郎, 萱岡節子: 日藥誌, 89, 879 (1969)
2. 高木敬次郎, 小澤光: 藥物學實驗 96 南山堂 (1970)
3. 洪南斗: 慶熙藥大論文集 5, 27 (1977)
4. 洪承喆: 釜山大學論文集 18輯, 自然科學篇, 97 (1974)
5. 田村豊辛; 藥理學實驗法, 194, 協同出版社(1972)
6. 古家敏夫: 日藥理誌 55, 1152 (1959)
7. 高木敬次郎 等; 日藥理誌 67, 514 (1971)
8. 鄭址昌: 慶熙藥大論文集, 5, 13 (1977)
9. 兆村元仕: 臨床病理特輯 15, 35 (1968)
10. Leo, G. Morin, et al.: Clin. Chem., 19, 959 (1973)
11. P. Kabasakalian: Clin. Chem. 20, 606 (1974)
12. P. Sharp: Clin. Chem. Acta. 40, 115 (1972)
13. C. Allain, et. al: Clin. Chem., 20(4), 470 (1974)
14. W. Richmond: Clin. Chem., 19(12), 1350 (1973)
15. 鶴見介登, 藤村一, 吳晃一郎: 日藥理誌, 72, 41 (1976)
16. 木村正康, 吉崎正雄, 室郁子, 志浦傳逸: 日藥理誌, 85, 570 (1965)