

益黃散이 galactosamine으로 誘導한
肝中毒 회귀에 미치는 影響

김 미 지* · 김 장 현*

The protective effect of the MeoH extract of Ikhwangsan against
galactosamine-induced hepatotoxicity in rat.

Mi-Ji Kim* · Jang-Hyun Kim*

Dept. of Oriental Pediatrics, College of Oriental Medicine, Dong Guk Univ.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the protective effect of the MeoH extract of Ikhwangsan against galactosamine-induced hepatotoxicity.

In the experiments, after treated with Ikhwangsan methanol extract to the rats for 15days and then induced hepatotoxicity with galactosamine for 2days. Then content of glutathione, level of lipid peroxide and activity of GOT · GPT in the hepatic tissue, activity of GOT · GPT · γ -GTP · ALP and ratio albumin/globulin in serum were measured.

The results were obtained as followed :

1. The content of hepatic glutathione was significantly reduced by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was confirmed considerably increased.
2. The level of hepatic lipid peroxide was increased by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was confirmed considerably reduced.
3. The activity of GOT · GPT in the hepatic tissue was significantly constrained by galactisamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was confirmed considerably increased.
4. The activity of GOT · GPT in serum was increased by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was confirmed considerably reduced.
5. The activity of γ -GTP in serum was increased by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was reduced.

* 동국대학교 한의과대학 소아과학교실

6. The activity of ALP in serum was increased by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was confirmed considerably reduced.

7. The ratio albumin/globulin in serum was reduced by galactosamine. The test group which have been pre-treated by Ikhwangsan was increased.

I. 緒 論

益黃散에 對한 最初의 文獻인 小兒藥證直訣²⁶⁾에 肝病이 가을에 보이는 것은 肝強勝肺하고 肺怯하여 肝을 勝하지 못하는 것으로, 治療함에 있어 마땅히 補脾肺 治肝하여야 하며 益脾하는 것은 母가 子를 實하게 하기 때문이니 益黃散으로 補脾하고 瀉靑丸으로 治肝한다고 하여 肝疾患에 應用한 이후, 그 效能에 對하여 錢²⁶⁾은 小兒의 脾胃虛弱과 이로 인한 脾疝, 腹大, 身瘦을 治療한다고 하였고, 許 등¹⁰⁾은 脾臟虛冷하여 腹痛, 泄利하는 脾虛證을 治療한다고 하였으며, 謝 등^{17,19)}은 補土和中之劑로서 小兒가 脾胃虛寒으로 乳食不化, 腹痛泄利하는 것과 婦人의 妊娠嘔吐, 泄瀉, 産後泄瀉를 治療한다고 하였다.

이와같은 症狀을 脾病證의 範疇에 包含하여 이의 治療方法으로서 金²⁾은 脾病證의 通治要法에서 土敗木賊은 脾虛하여 肝邪가 乘之한 것으로 腸鳴腹痛, 痛則必瀉하고 脾의 運化機能失調로 完穀不化, 噯氣食少하며 肝氣가 橫逆하여 胸脇痞悶하니 그 治法으로 補脾抑肝한다고 하였다.

최근 益黃散에 對한 實驗 研究로는 俞¹⁶⁾는 益黃散이 腸管에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究, 卞¹⁵⁾은 益黃散 및 그 構成 藥材의 效能에 관한 實驗的 研究 등 脾胃 腸管系의 治療에 관한 報告를 하였으나 益黃散이 肝損傷의 豫防效果에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究는 없었다.

이에 著者는 益黃散이 肝損傷의 豫防效果에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 益黃散 methanol 抽出物을 投與한 흰쥐에 galactosamine으로 肝毒性을 誘導하고 肝組織內 glutathione과 過酸化脂質의 含量, GOT 및 GPT 酵素活性 測定과 血清中의 GOT·GPT·γ-GTP·ALP 酵素活性과 albumin/globulin比를 測定하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 藥材

本 實驗에 使用한 藥材는 東國大學校 附屬 韓方病院에서 구입한 후 정선하여 使用하였으며 1첩의 內容과 分量은 다음과 같다.^{15,7,8,17,19,21,24,26,27)}

陳皮(Aurantii Nobilis pericarpium)	37.5g
丁香(Caryophylli Flos)	7.5g
暑訶子(Terminaliae Fructus)	18.75g
靑皮(Aurantii immatri paricarpium)	18.75g
炙甘草(Glycyrrhizae Radix)	18.75g
total	101.25g

2) 動物

實驗動物은 一定한 條件下에서 飼育한 外觀上 健康한 體重 200g內外의 雄性 sprague-dawley系 흰쥐를 使用하였다.

3) 試藥 및 機器

Galactosamine, bovine serum albumine, thio-barbituric acid(TBA), malon dialdehyde(MDA), glutathion reduced form, sodium dodecyl sulfate (SDS), 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid), sulfosalicylic acid, albumin/globulin比 측정용 kit는 Sigma社에서 구입하였으며, glutamate `oxaloacetate transaminase(GOT) 및 glutamate pyruvate transaminase(GPT) 측정용 kit, γ -glutamyl transpeptidase(γ -GTP) 측정용 kit 및 alkaline phosphatase(ALP) 측정용 kit는 Eiken社의 것을 구입하여 使用하였다. 그의 實驗에 使用한 모든 試藥들은 시중에서 特級品 또는 一級品을 구입하여 使用하였다.

2. 實驗方法

1) 檢液의 調製

益黃散 3貼(303.75g) 分量에 3培量의 methanol을 加한 다음 60°C에서 24시간 간격으로 3회 반복추출하여 濾過한 후, 濾液을 회전증발 감압농축기를 使用하여 益黃散 methanol extract (IHS) 121g을 얻었다.

2) 實驗動物의 分類 및 處置

實驗動物은 正常群(Normal group), 對照群(Control group), 實驗群 A(Sample group A), 實驗群 B(Sample group B)로 分類하였다.

正常群은 1% CMC 용액을 體重 kg당 200mg씩 15일간 經口投與한 후, 0.9% NaCl을 體重 kg당 400mg씩 2일간 腹腔注射하였다.

對照群은 1% CMC 용액을 體重 kg당 200mg씩 15일간 經口投與한 후, galactosamine을 體重 kg당 400mg씩 2일간 腹腔注射하여 肝毒성을 誘發하였다³⁰.

實驗群 A는 IHS을 1% CMC 용액에 현탁하여 體重 kg당 200mg씩 15일간 經口投與한 후, 0.9% NaCl을 體重 kg당 400mg씩 2일간 腹腔

注射하였다.

實驗群 B는 IHS을 1% CMC 용액에 현탁하여 體重 kg당 200mg씩 15일간 經口投與한 후, galactosamine을 體重 kg당 400mg씩 2일간 腹腔注射하여 肝毒성을 誘發하였다³⁰.

모든 實驗動物은 實驗前 16시간 동안 물만 주고 絶食시켰다.

3) 生體試料의 調製

實驗動物을 ether로 痲醉시킨 다음 腹部 正中線을 따라 開腹하여 腹部大動脈에서 採血한 후, 生理食鹽水로 貫流시킨 肝臟을 摘出하여 食염수로 깨끗이 씻고 濾紙로 남아있는 血液 및 生理食鹽水를 除去한 후, 組織 1g당 4배량의 0.1M potassium · phosphate buffer(pH 7.5)를 加하여 氷冷下에서 glassteflon homogenizer로 磨碎하여 均質液을 만들었다. 이 磨碎均質液을 glutathione 및 過酸化脂質의 含量 측정시료로 使用하였다. 또한 調製된 磨碎均質液을 10,000 ×g에서 1시간 동안 遠心分離하여 上澄액을 얻은 후 이것을 組織中 GOT 및 GPT 측정시료로 使用하였다.

한편 血液은 室溫에서 1시간 동안 放置한 후 血清을 分離하여 GOT · GPT · γ -GTP · ALP 측정효소원 및 albumin/globulin比 측정시료로 使用하였다.

上記 모든 조작은 規定이 없는 한 0-4°C에서 行하였다.

4) Glutathione의 含量測定

肝組織內 glutathione의 含量測定은 Ellman 등의 방법³¹에 準해 實施하였다. 肝組織 磨碎均質液 一定量에 증류수와 4% sulfosalicylic acid를 加하여 混合한 후 遠心分離하여 얻은 上澄액 0.3ml에 disulfide 시액 2.7ml를 加하여 室溫에서 10분간 放置하였다. 이것을 파장 412 nm에서 맹시험을 對照로 吸光度의 變化를 測定하였다.

Glutathione의 含量은 組織 1g당 μmole 로 나타내었다.

5) 過酸化脂質의 含量測定

肝組織內 過酸化脂質의 含量測定은 Ohkawa 등의 방법³⁸⁾에 準해 實施하였다. 肝組織 磨碎 均質液 一定量에 8.1% SDS 용액, 20% acetate buffer(pH 3.5) 및 0.8% TBA 용액을 加하여 95°C에서 1시간 동안 反應시킨 후, 室溫으로 冷却하여 生成된 紅色의 TBA 反應產物을 n-butanol : pyridine(15 : 1) 混液으로 移行시켜 파장 532nm에서 吸光度의 變化를 測定하였다.

過酸化脂質의 含量은 組織 1g당 MDA의 量을 nmole로 나타내었다.

6) 酵素活性度の 測定

① 組織 및 血清中 GOT · GPT 活性測定

Reitman 과 Frankel의 방법⁴⁰⁾에 따라 조제된 kit시약을 使用하여 測定하였다. GOT(100ml당 L-aspartic acid 2,660mg 및 α -ketoglutaric acid 29.2mg 함유), GPT(100ml당 DL-alanine 1,780mg 및 α -ketoglutaric acid 29.2mg 함유) 기질액 1.0ml을 시험관에 加하여 37°C에서 5분간 放置한 다음, 組織液 또는 血清 0.2ml을 넣어 37°C에서 GOT는 60분간, GPT는 30분간 反應시킨 뒤 정색시약(2,4-dinitrophenylhydrazinl : 100ml당 19.8mg 함유) 1.0ml을 添加하여 反應을 終了시키고, 0.4N-NaOH 용액 10ml을 加하여 잘 混合한 다음 10분간 放置하였다가 파장 505nm에서 吸光度의 變化를 測定하였다.

組織內 GOT · GPT의 活性도는 蛋白質 1mg당 karmen unit³⁹⁾로, 血清中 GOT · GPT의 活性도는 血清 1ml당 karmen unit³⁹⁾로 나타내었다.

② 血清中 γ -GTP 活性測定

血清中 γ -GTP의 活性測定은 Divon의 방법³⁹⁾을 變形하여 測定하였다. 기질액 1.0ml을 시험관에 加하여 37°C에서 5분간 加溫한 다음, 血清 一定量을 加하여 잘 混合한 후 37°C에서 30분간

反應시킨다. 이 反應液에 정색시약 3.0ml를 加하여 10분간 室溫에 放置시킨 다음 60분 이내에 맹검을 對照로 하여 파장 565nm에서 生成된 p-nitroaniline의 吸光度를 測定하였다.

血清中 γ -GTP의 活性도는 血清 ml당 生成된 p-nitroaniline의 量을 nmole로 나타내었다.

③ 血清中 ALP 活性測定

血清中 ALP 活性測定은 Petkova 등의 방법⁴⁰⁾에 따라 조제된 kit를 使用하여 實施하였다. 기질액 2.0ml을 시험관에 加하여 37°C에서 5분간 加溫한 다음 여기에 血清 적당량을 加하여 잘 混合한 후 37°C에서 15분간 反應시켰다. 정색시약 2.0ml을 넣고 충분히 混合한 다음 室溫에서 10분간 放置시키고 60분 이내에 맹검을 對照로 파장 500nm에서 吸光度를 測定하였다.

血清中 ALP의 活性도는 血清 dl당 King-Armstrong unit로 나타내었다.

7) albumin/globulin比의 測定

血清中 albumin/globulin比의 測定은 Gornall 등의 방법³⁹⁾에 準해 實施하였다. 血清 0.5ml에 isotonic sulfate 용액 9.5ml를 加하여 混合한 다음 混液 一定量을 취해 總蛋白質 測定에 使用하고, 나머지 混液에는 3ml의 ether를 加하여 混合한 다음 遠心分離하여 水層과 ether層으로 나뉘면 水層 2ml를 取한다. 처음 만들어진 混液과 遠心分離後 취한 水層 2ml에 biuret시약을 加하여 發色시킨 다음 파장 540nm에서 吸光度를 測定하여 總蛋白質과 albumin의 量을 算定하였다.

Globulin의 含量은 總蛋白質에서 albumin의 量을 減한 값으로 나타내었다.

8) 蛋白質의 定量 및 實驗成績의 統計處理

蛋白質의 定量은 Lowry 등의 방법³⁷⁾에 準해 bovine serum albumin을 標準品으로 하여 定量하였다.

한편 實驗結果의 有意性 檢證은 student's t-

test를 利用하여 相互比較하여 觀察하였다.

III. 實驗成績

1. 肝組織內 glutathione 含量變化

正常群의 glutathione 含量은 3.94 ± 0.38 μmole 인데 비해 對照群은 $2.49 \pm 0.28 \mu\text{mole}$ 로 현저하게 減少하였으나, 實驗群 B는 $3.33 \pm 0.13 \mu\text{mole}$ 로 對照群에 비해 有意性($P < 0.05$)있게 增加하였다(Tab. I, Fig. 1).

2. 肝組織內 過酸化脂質 含量變化

正常群의 過酸化脂質 含量은 10.20 ± 0.65 nmole 인데 비해 對照群은 35.89 ± 1.94 nmole로 約 3배 정도 增加하였으나, 實驗群 B는 16.73 ± 3.71 nmole로 對照群에 비해 有意性($P < 0.01$)있게 減少하였다(Tab. II, Fig. 2).

3. 肝組織內 GOT 및 GPT 活性變化

肝組織內 GOT 活性은 正常群이 743.31 ± 128.69 karmen unit인데 비해 對照群은 292.68 ± 80.11 karmen unit로 현저하게 減少하였으나, 實驗群 B는 650.61 ± 100.59 karmen unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.05$)있게 增加하였다(Tab. III, Fig. 3).

肝組織內 GPT 活性은 正常群이 794.88 ± 83.58 karmen unit인데 비해 對照群은 220.77 ± 21.19 karmen unit로 현저하게 減少하였으나, 實驗群 B는 669.47 ± 40.53 karmen unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.001$)있게 增加하였다(Tab. IV, Fig. 4).

4. 血清中 GOT 및 GPT 活性變化

血清中 GOT 活性은 正常群이 50.67 ± 5.25 karmen unit인데 비해 對照群은 110.34 ± 18.08 karmen unit로 約 2배 이상 增加하였으나, 實驗群 B는 56.50 ± 6.5 karmen unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.05$)있게 減少하였다(Tab. V, Fig. 5).

血清中 GPT 活性은 正常群이 15.5 ± 1.87 karmen unit인데 비해 對照群은 171.7 ± 2.25 karmen unit로 約 12배 정도 增加하였으나, 實驗群 B는 41.0 ± 4.01 karmen unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.001$)있게 減少하였다(Tab. VI, Fig. 6).

5. 血清中 γ -GTP 活性變化

正常群의 γ -GTP 酵素活性은 51.10 ± 1.68 karmen unit인데 비해 對照群은 109.50 ± 2.23 karmen unit로 約 2배 이상 增加하였으나, 實驗群 B는 75.02 ± 6.09 karmen unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.001$)있게 減少하였다(Tab. VII, Fig. 7).

6. 血清中 ALP 活性變化

正常群의 ALP 活性은 29.75 ± 7.66 King-Amstrong unit인데 비해 對照群은 54.44 ± 2.79 King-Amstrong unit로 2배 정도 增加하였으나, 實驗群 B는 41.19 ± 2.24 King-Amstrong unit로 對照群에 비해 有意性($P < 0.01$)있게 減少하였다(Tab. VIII, Fig. 8).

7. 血清中 albumin/globulin比의 比較

正常群의 albumin/globulin比가 1.28 ± 0.15 인데 비해 對照群은 0.70 ± 0.14 로 현저하게 減少하였고 globulin 含量은 正常群에 비해 增加하였으나, 實驗群 B의 albumin/globulin比는 1.15

± 0.10 으로 對照群에 비해 有意性($P < 0.05$)있게 增加하였으며 globulin의 含量도 현저하게 減少하였다(Tab. IX, Fig. 9).

Table I. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the content of hepatic glutathion in galactosamine-treated rat.

Group	GSH μ moles/g of tissue
Normal	3.94 ± 0.38
Control	2.49 ± 0.28 * a)
Sample A	3.70 ± 0.33
Sample B	3.33 ± 0.13 * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean \pm S.E. for 5 animals

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

* : $P < 0.05$

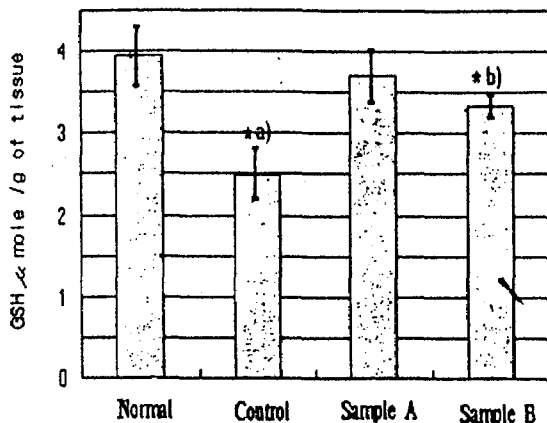


Fig. 1. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the content of hepatic glutathione in galactosamine-treated rat.

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- * : P<0.05

Table II. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the level of hepatic lipid peroxide in galactosamine-treated rat.

Group	MDA nmoles/g of tissue
Normal	10.20 ± 0.65
Control	35.89 ± 1.94 * * * a)
Sample A	11.09 ± 0.87
Sample B	16.73 ± 3.71 * * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- * * : P<0.01 * * * : P<0.001

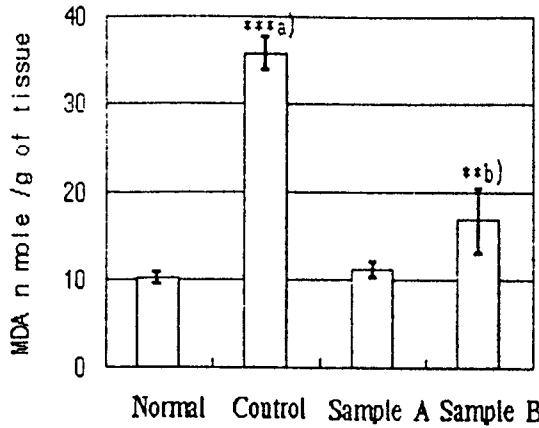


Fig. 2. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the level of hepatic lipid peroxide in galactosamine-treated rat.

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

** : P<0.01

*** : P<0.001

Table III. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of tissue GOT in galactosamine-treated rat, liver.

Group	karmen unit/mg protein
Normal	742.31 ± 128.69
Control	292.68 ± 80.11 * a)
Sample A	647.57 ± 141.38
Sample B	650.61 ± 100.59 * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

* : P<0.05

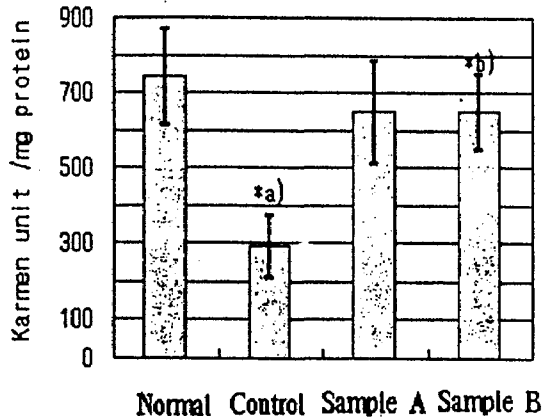


Fig. 3. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of tissue GOT in galactosamine-treated rat, liver.

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- * : P<0.05

Table IV. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of tissue GPT in galactosamine-treated rat, liver.

Group	karmen unit/mg protein
Normal	794.88 ± 83.58
Control	220.77 ± 21.19 *** a)
Sample A	720.62 ± 50.38
Sample B	669.47 ± 40.53 *** b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

- a) ; significantly different from normal group
- b) ; significantly different from control group
- *** : P<0.001

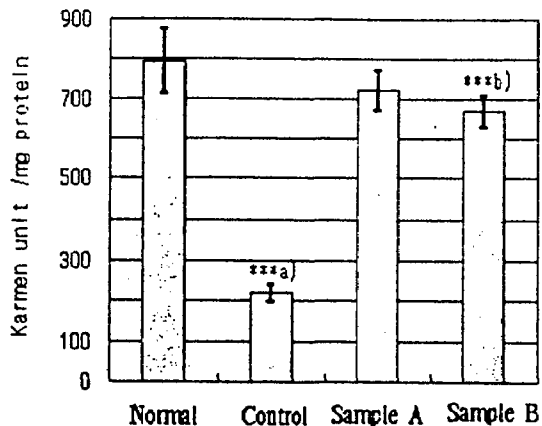


Fig. 4. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of tissue GPT in galactosamine-treated rat, liver.

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

*** : P<0.001

Table V. Effect of methanol extract of Ikhwangsan on the activity of serum GOT in galactosamine-treated rat.

Group	karmen unit/ml of serum
Normal	50.67 ± 5.25
Control	110.34 ± 18.08 * a)
Sample A	43.67 ± 7.41
Sample B	56.50 ± 6.5 * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

* : P<0.05

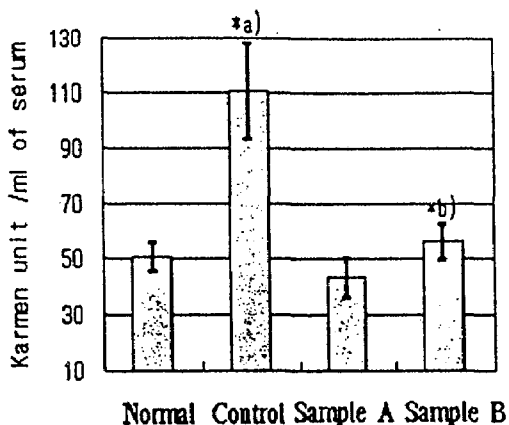


Fig. 5. Effect of methanol extract of Ikhwangsan on the activity of serum GOT in galactosamine-treated rat

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

* : P<0.05

Table VI. Effect of methanol extract of Ikhwangsan on the activity of serum GPT in galactosamine-treated rat.

Group	Karmen unit/ml of serum
Normal	15.5 ± 1.87
Control	171.7 ± 2.25 *** a)
Sample A	16.5 ± 1.62
Sample B	41.0 ± 4.01 *** b) *** a)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

*** : P<0.001

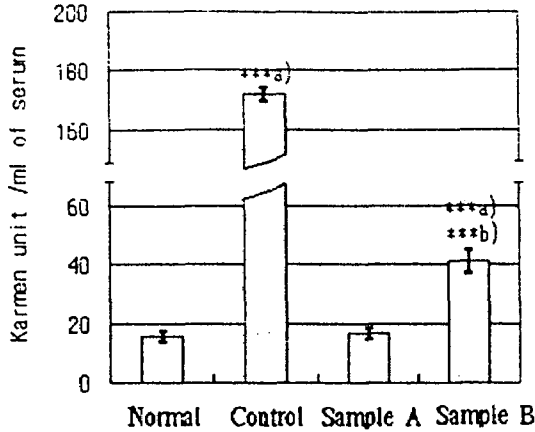


Fig. 6. Effect of methanol extract of Ikhwangsan on the activity of serum GPT in galactosamine-treated rat.

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

*** : P<0.001

Table VII Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of γ -GTP in galactosamine-treated rat.

Group	p-nitroaniline nmole/ml
Normal	51.10 \pm 1.68
Control	109.50 \pm 2.23 *** a)
Sample A	51.67 \pm 2.47
Sample B	75.02 \pm 6.09 *** b) ** a)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean \pm S.E. for 5 animals

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

** : P<0.01 *** : P<0.001

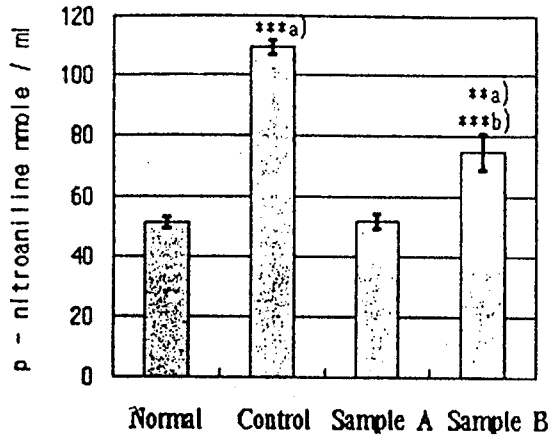


Fig. 7. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of γ - GTP in galactosamine-treated rat.

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- ** : $P < 0.01$ *** : $P < 0.001$

Table VIII. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of ALP in galactosamine-treated rat.

Group	King-Amstrong unit/dℓ of serum
Normal	29.75 ± 7.66
Control	54.44 ± 2.79 * a)
Sample A	33.65 ± 2.88
Sample B	41.19 ± 2.24 * * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assay procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- * : $P < 0.05$ * * : $P < 0.01$

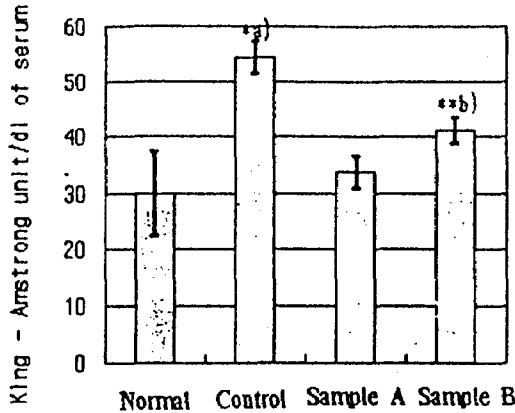


Fig. 8. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the activity of ALP in galactosamine-treated rat.

- a) : significantly different from normal group
- b) : significantly different from control group
- * : P<0.05 ** : P<0.01

Table IX. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the ratio of albumin/globulin in galactosamine-treated rat.

Group	protein content(mgml of serum)			a/g ratio
	total	albumin	globulin	
Normal	5.84± 0.63	3.38± 0.58	2.62± 0.20	1.28± 0.15
Control	5.09± 0.79	2.03± 0.18	3.50± 0.24 * * a)	0.70± 0.14 * a)
Sample A	5.26± 0.19	3.07± 0.48	2.49± 0.21	1.41± 0.57
Sample B	5.24± 0.52	2.78± 0.14	2.46± 0.29 * b)	1.15± 0.10 * b)

Normal group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of 0.9% NaCl.

Control group were administered 1% CMC solution(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

Sample group A were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected 0.9% NaCl(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of NaCl.

Sample group B were administered the methanol extract of Ikhwangsan(200mg/kg, p.o) for 15days, and injected galactosamine(400mg/kg, i.p) for the last 2days, and killed after the last dose of galactosamine.

The assery procedure was described in the experimental methods.

Values are mean ± S.E. for 5 animals

- a) ; significantly different from normal group
- b) ; significantly different from control group
- * : P<0.05 ** : P<0.01

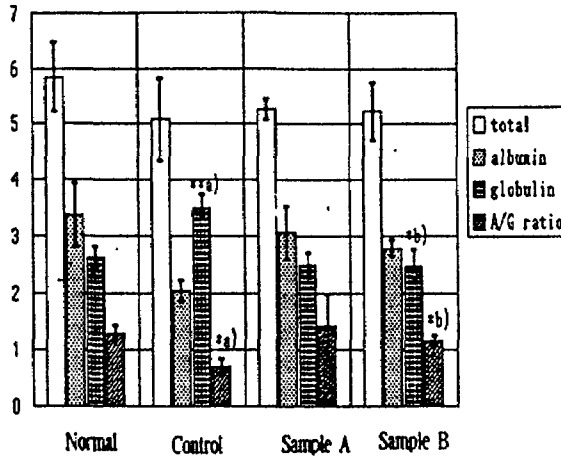


Fig. 9. Effect of the methanol extract of Ikhwangsan on the ratio of albumin/globulin in galactosamine-treated rat.

a) : significantly different from normal group

b) : significantly different from control group

* : $P < 0.05$

** : $P < 0.01$

IV. 考 察

內經「素問·四氣調神大論篇」⁹⁾에 聖人은 不治已病이요 治未病이라 하였는데 이는 病을 未然에 防止한다는 疾病의 豫防뿐만 아니라, 病의 傳變을 把握하여 病이 進展되는 것을 防止한다는 早期治療의 重要性도 內包하고 있으며²⁰⁾, 이를 張²⁵⁾은 肝之病이 나타나면 肝傳脾함을 알아 마땅히 先實脾해야 하는데, 이것은 脾가 腎을 傷하여 腎氣가 微弱하면 水不行하고 水不行한 즉 心火氣盛하며 이는 다시 肺를 傷하여 金氣不行케 한 즉 肝氣가 盛해지기 때문이니 實脾하면 肝이 스스로 낮게 되며 이것이 治肝補脾의 要妙라 하여 治未病의 理論을 五臟의 相關關係로서 說明하고 있다.

또한 錢²⁶⁾은 肝病이 가을에 보이는 것은 肝強勝肺하고 肺怯하여 肝을 勝하지 못하는 것

으로, 治療함에 있어 마땅히 補脾肺 治肝하여야 하며 益脾하는 것은 母가 子를 實하게 하기 때문이니 益黃散으로 補脾하고 瀉青丸으로 治肝한다고 하여 肝病을 治療함에 있어 先實脾하므로써 病이 進展되는 것을 豫防코자 하였다.

益黃散은 小兒의 脾胃虛弱과 이로 인한 脾疳, 腹大, 身瘦, 乳食不化, 腹痛泄利, 食減, 등과 婦人의 妊娠嘔吐, 泄瀉, 産後泄瀉를 治療하는데에 使用하는 處方으로 陳皮, 青皮, 訶子肉, 炙甘草, 丁香으로 構成되어 있다^{1,25,27,17,19,21,23,24,26,27)}.

本方劑를 構成하고 있는 藥物의 性味, 歸經, 效能을 考察해보면 陳皮는 辛苦溫無毒하여 脾肺二經에 入하고 同用하는 藥劑에 따라 補, 瀉, 升, 降할 수 있으며 調中快膈, 導痰消滯, 利水破癥, 宣五臟, 理氣燥濕하는 效能이 있어 院腹脹滿, 惡心嘔吐, 消化不良, 食少, 痰濕壅滯, 胸膈滿悶, 氣逆喘咳 등을 다스린다고 하였고, 青

皮는 苦辛微溫無毒하여 肝膽二經에 入하고 疏肝瀉肺, 破滯削堅, 除痰消 痰하므로 肝氣鬱結로 인한 脇肋脹痛, 乳房脹痛, 小腸疝氣, 久栖結癖, 食積腹脹, 噎氣 등 모든 氣滯病證에 應用한다고 하였다. 訶子肉은 苦酸澁溫無毒하고 肺胃大腸三經에 入하여 苦味로써 泄氣消痰하고 酸味로써 斂肺降火하며 澁味로 收脫止瀉하고 溫性으로 開胃調中하므로 冷氣腹脹, 膈氣嘔逆, 痰嗽喘急, 瀉痢脫肛, 腸風崩帶 등을 治療하며 熱한 것은 溫胃固腸의 效能이 있어 痢疾, 泄瀉에 使用한다고 하였고, 炙甘草는 甘微溫하여 脾胃肺三經에 入하며 補三焦元氣, 散表寒하며 入和劑하면 補益하고 入汗劑하면 解肌하며 入涼劑하면 邪熱을 瀉하고 入峻劑하면 正氣를 緩하고 入潤劑하면 陰血을 養하여 諸藥을 和中解毒한다고 하였고, 丁香은 辛溫無毒하여 脾胃腎三經에 入하고 泄肺, 溫胃, 煖腎하므로 모든 嘔噦, 呃逆, 反胃, 霍亂嘔噦, 心腹冷痛, 疝瘕奔豚을 治한다고 하였다^{46,18,22,23,26}.

최근 益黃散에 對한 實驗 研究로는 俞¹³는 益黃散이 腸管에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究, 卞¹⁴은 益黃散 및 그 構成 藥材의 效能에 관한 實驗的 研究 등 주로 腸管系에 미치는 影響에 관한 報告를 하였고, 實驗的 肝損傷에 미치는 藥物의 效果에 對한 研究로는 郭¹⁵은 胃苓湯 및 茵陳五苓散이 Galactosamine에 의한 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 金¹⁶은 柴胡清肝湯이 CCL₄中毒 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響에 關하여, 金¹⁷은 茵陳蒿湯이 損傷肝 및 高脂血症에 미치는 影響, 金¹⁸은 小柴胡湯加鹿茸이 CCL₄中毒 Rat의 肝機能 回復에 미치는 影響, 朴¹⁹은 清肝湯이 CCL₄ 및 d-Galactosamine에 依하여 誘發된 實驗的 원래 肝障害에 미치는 影響 등 肝中毒을 誘發한 動物에 대한 藥物의 治療效果에 關해 報告하였으나, 益黃散이 損傷된 肝의 豫防效果에 關한 實驗的 研究는 報告되어진 바가 없었다.

이에 著者는 益黃散이 張²⁰의 治未病 理論에 따른 肝病의 豫防效果에 미치는 影響을 糾明 하고자, 益黃散 methanol 抽出物 200mg/kg을 15 일간 經口投與한 원래에 galactosamine 400mg/kg을 2일간 腹腔注射하여 肝毒性을 誘導한 다음 肝組織內 glutathione과 過酸化脂質의 含量, GOT·GPT의 酵素活性度, 血清中 GOT·GPT·γ-GTP·ALP 酵素活性도와 albumin/globulin比를 測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

Glutathione은 生體內 여러 臟器에 分布하는 내인성 물질로 주로 肝에서 生合成이 이루어지며, 肝臟에 다량 分布하고 있는 解毒物質의 하나로서 外部로부터 유입된 毒性物質과 抱合反應을 하여 排泄시키므로써 毒性物質에 대한 生體防禦作用을 擔當하고 있다²⁰.

肝組織內 glutathione의 含量變化는 正常群이 $3.94 \pm 0.38 \mu\text{mole}$ 인데 비해 對照群은 $2.49 \pm 0.28 \mu\text{mole}$ 로서 glutathione含量이 현저하게 減少하였으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B는 $3.33 \pm 0.13 \mu\text{mole}$ 로 對照群에 비해 有意性있게 增加하여, 益黃散 前處置가 glutathione의 生合成 破壞에 대한 保護作用이 있는 것으로 思料된다.

過酸化脂質은 細胞毒性을 測定하는 parameter의 하나로서 毒性物質에 의해 肝細胞가 破壞되면 다량 生成되며 이는 肝細胞膜에 存在하는 다가불포화지방산이 毒性物質에 의해 過酸化反應이 促進되어 나타나는 현상으로 알려져 있다²².

肝組織內 過酸化脂質의 含量變化는 正常群이 $10.20 \pm 0.65 \text{nmole}$ 인데 비해 對照群은 $35.89 \pm 1.94 \text{nmole}$ 로서 約 3배 정도 增加하였으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B는 過酸化脂質의 含量이 $16.73 \pm 3.71 \text{nmole}$ 로 對照群에 비해 有意性있는 減少현상이 觀察되었다. 따라서 益黃散 前處置가 毒性物質에 의한 肝細胞 破壞를 抑制시키므로써 細胞膜에 存在하는 다가불포

화지방산의 酸化가 低下된 것으로 思料된다.

GOT·GPT는 amino기 轉移酵素의 一種으로 肝細胞 分割中 cytosol分割에 다량 含有되어 있으며 外部 毒性物質에 의한 細胞膜 損傷으로 細胞가 破壞될 때 GOT·GPT 酵素가 血中으로 다량 流出되므로 臨床에서 肝機能 損傷程度를 測定하는 parameter로 널리 이용되고 있다³⁾. 또한 肝細胞內的 GOT·GPT가 血中으로 다량 流出되기 때문에 相對적으로 肝組織內的 GOT·GPT 酵素活性는 減少될 것으로 豫상되어진다.

肝組織內 GOT의 活性變化는 正常群이 743.31±128.69 karmen unit인데 비해 對照群은 292.68±80.11 karmen unit로 酵素活性이 현저하게 低下되었고, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性도는 650.61±100.59 karmen unit로 正常群 수준에 가깝게 增加되었다.

肝組織內 GPT의 活性變化는 正常群이 794.88±83.58 karmen unit인데 비해 對照群은 220.77±21.19 karmen unit로 현저하게 減少되었으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性도는 669.47±40.53 karmen unit로서 對照群에 비해 현저하게 增加하였다.

血清中 GOT의 活性變化는 正常群이 50.67±5.25 karmen unit인데 비해 對照群은 110.34±18.08 karmen unit로 約 2배 이상 增加되었으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性도는 56.50±6.5 karmen unit로 거의 正常群 수준으로 減少되어 있다.

血清中 GPT의 活性變化도 正常群이 15.5±1.87 karmen unit인데 비해 對照群은 171.7±2.25 karmen unit로 約 12배 정도 增加되었고, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性도는 41.0±4.01 karmen unit로 對照群에 비해 有意性 있게 減少되었다. 이는 益黃散 前處置가 細胞膜을 保護하므로써 肝細胞內的 GOT·GPT가

血中으로 流出되는 것을 防止하여 肝組織內에서의 活性低下와 血中 GOT·GPT의 活性增加가 抑制된 것으로 思料된다.

또한 γ -GTP도 GOT·GPT와 같이 細胞分割中 可溶性分割에 다량 分布하는 酵素로서 細胞毒性에 의해 細胞膜이 破壞되었을 때 血液中으로 다량 流出된다고 알려져 있어 血中 γ -GTP 活性의 增加現狀을 觀察하여 細胞毒性 與否를 가늠하는 하나의 基準이 된다³⁾.

血清中 γ -GTP 活性變化는 正常群이 51.10±1.68 karmen unit인데 비해 對照群은 109.50±2.23 karmen unit로 約 2배 이상 增加하였으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性는 75.02±6.09 karmen unit로 有意性 있게 減少하였다. 이는 益黃散 前處置가 毒性物質에 의한 肝細胞 破壞에 保護作用을 하므로써 γ -GTP가 血中으로의 流出을 抑制시키는 것으로 思料된다.

ALP(alkaline phosphatase)는 可水分解酵素의 하나로서 細胞分割中 可溶性分割에 다량 分布하고 있으며, 黃疸·肝炎·paget' disease 또는 骨髓癌 등의 疾患이 있을 때 血中 ALP의 分布量이 增加한다고 알려져 있다³⁾. 따라서 血液中の ALP 活性를 測定하므로써 肝機能 損傷與否를 豫想할 수 있다.

血清中 ALP 活性變化는 正常群이 29.75±7.66 King-Amstrong unit인데 비해 對照群은 54.44±2.79 King-Amstrong unit로 2배 가까이 增加하였으나, 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 酵素活性도는 41.19±2.24 King-Amstrong unit로서 對照群에 비해 有意性 있게 減少하여 益黃散 前處置가 細胞破壞를 保護하므로써 血中 ALP 活性의 增加를 抑制하는 것으로 思料된다.

血中 總蛋白質의 減少現狀은 albumin의 消失에 의해 主로 생기며 增加現狀은 globulin含

量의 增加에 의해 나타나는데, albumin/globulin比의 低下나 增加現狀은 甚한 營養不良이나 火傷·泄瀉·腎臟疾患時 蛋白質의 喪失에 起因하든가 또는 急性肝臟疾患·慢性肝臟疾患時에 볼 수 있는 globulin의 增加에 起因한다고 알려져 있다³⁾.

血清中 albumin/globulin比를 比較해보면 正常群이 1.28 ± 0.15 인데 비해 對照群은 0.70 ± 0.14 으로 현저하게 減少되었고, globulin含量은 對照群이 3.50 ± 0.24 로 正常群의 2.62 ± 0.20 에 비해 增加됨을 알 수 있다. 이에 반해 益黃散을 前處置한 實驗群 B의 albumin/globulin比는 1.15 ± 0.10 로 正常群 수준에 가깝게 增加하였으며 globulin의 含量도 2.46 ± 0.29 로 對照群에 비해 減少하였다. 따라서 益黃散 前處置가 急·慢性 肝臟疾患이 있을 때 나타나는 globulin의 含量 增加를 抑制하므로써 albumin/globulin比의 減少現狀을 防止한 것으로 思料된다.

以上の 結果로 보아 益黃散이 毒性物質에 의한 肝細胞의 破壞로 부터 강한 生體保護效果를 지니고 있음을 觀察할 수 있었고, 특히 galactosamine에 의해서 誘導된 肝損傷에 대해 有意한 效果가 있음이 立證되었다. 이는 五行相生相剋에 의한 五臟의 相關作用의 影響으로 인한 것인지는 명백히 밝힐 수 없지만, 益黃散 이외의 補脾, 實脾하는 處方들이 豫防醫學의 次元에 立脚하여 肝損傷의 治療에 應用이 될 수 있을지는 추후 研究되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

益黃散이 galactosamine으로 誘導한 肝毒性에 미치는 影響을 觀察하기 위하여 益黃散 methanol 抽出物을 病變에 投與한 후 galactosamine으로 肝毒性을 誘導하였을 때 肝組織內的

glutathione과 過酸化脂質의 含量, GOT·GPT 活性을 測定하고, 血清中の GOT·GPT· γ -GTP·ALP의 活性과 albumin/globulin比를 比較測定하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. Galactosamine에 의해 현저히 低下되었던 肝組織內 glutathione 含量은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性 있게 增加하였다.

2. Galactosamine에 의해 增加되었던 肝組織內 過酸化脂質의 含量은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性 있게 減少하였다.

3. Galactosamine에 의해 현저히 抑制되었던 肝組織內 GOT, GPT 活性은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性 있게 增加하였다.

4. Galactosamine에 의해 增加되었던 血清中 GOT 및 GPT 活性은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性 있게 減少하였다.

5. Galactosamine에 의해 增加되었던 血清中 γ -GTP의 活性은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性있게 減少하였다.

6. Galactosamine에 의해 增加되었던 血清中 ALP의 活性은 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性 있게 減少하였다.

7. Galactosamine에 의해 減少되었던 血清中 albumin/globulin 比는 益黃散을 前處置한 實驗群에서 有意性있게 增加되었다.

VI. 參考文獻

1. 康命吉：濟衆新編, 서울, 杏林書院, p.90, 1975.
2. 金完熙, 崔達永：臟腑辨證論治, 서울, 成輔社, p.343, 1988.
3. 脾系內科學教授共著：脾系內科學(東醫消化器內科學), 서울, 그린文化社, p.36, 1991.
4. 辛民教：臨床本草學, 서울, 永林出版社, pp. 175-177, 266-267, 380-381, 381-382, 580-581.

- 1988.
5. 柳準基, 全燦一: 小兒集方, 서울, 圖書出版鼎談, p.76, 1993.
 6. 李尚仁 외: 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 236-237, 253-256, 256-257, 361-365, 1982.
 7. 丁奎萬: 東醫小兒科學, 서울, 杏林出版社, p.703, 1990.
 8. 許 浚: 東醫寶鑑, 서울, 大星出版社, p.143, 1981.
 9. 洪元植: 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p.14, 1981.
 10. 郭 燮: 胃苓湯 및 茵陳五苓散이 Galactosamine에 의한 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響, 圓光大學校大學院, 碩士學位論文, 1993.
 11. 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, 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1980.
 12. 김성동: 茵陳蒿湯이 損傷肝 및 高脂血症에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 碩士學位論文, 1992.
 13. 金興鎬: 小柴胡湯加鹿茸이 CCl₄ 中毒 Rat의 肝機能 回復에 미치는 影響, 尚志大學校大學院, 碩士學位論文, 1994.
 14. 朴商伯: 清肝湯이 CCl₄ 및 d-galactosamine에 依하여 誘發된 實驗的 원래 肝障害에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1986.
 15. 卞俊哲: 益黃散 및 그 構成 藥材의 效能에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1994.
 16. 俞載龍: 益黃散이 腸管에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 碩士學位論文, 1991.
 17. 謝 觀: 東洋醫學大辭典, 서울, 高文社, p. 558, 1987.
 18. 上海中醫學院: 中草藥學, 香港, 商務印書館, pp.306, 350, 352-353, 525-526, 596, 1981.
 19. 吳克潛: 吳氏兒科學, 台北, 新文豐出版公司, p.108, 中華民國 66年.
 20. 王 琦(編): 黃帝內經素問今釋, 서울, 成輔社, pp.8, 12-13, 1983.
 21. 吳 謙: 醫宗金鑑, 北京, 人民衛生出版社, p.88, 1973.
 22. 汪詡庵: 本草備要, 台北, 宏業書局有限公司, pp.2(卷1), 16, 27, 39, 40(卷3).
 23. 李 槿: 醫學入門, 서울, 大星文化社, pp. 158-159, 166, 167, 214-215, 276-277(本草), 137(小兒), 1990.
 24. 林珮琴: 類證治裁, 서울, 成輔社, p.160, 1980.
 25. 張仲景: 金匱要略方論(仲景全書 中), 서울, 大星出版社, p.349, 1988.
 26. 錢 乙: 小兒藥證直訣, 江蘇, 江蘇科學技術出版社, p.6, 1983.
 27. 浙江省中醫研究所: 醫方類聚, 北京, 人民衛生出版社, 11卷, p.165, 1982.
 28. 黃宮繡: 本草求真, 台北, 宏業書局有限公司, pp.15-16, 63-64, 119-120, 136, 137, 民國 70年
 29. Divon, D. M.: Serum gamma glutamyl transpeptidase activity in diseases of the liver and gallbladder(except infectious jaundice), *Vnitr. Lek.*, 15(4), pp.347-353, 1969.
 30. Ellman, G. L.: Tissue sulfhydryl group, *Arch. Biochem. Biophys.*, 82, pp.70-77, 1959.
 31. Garg, S. K., Makkar, H. P., Nagal, K. B., Sharma, S. K., Wadhwa, D. R. and Singh, B.: Oak(*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle, *Vet. Hum. Toxicol.*, 34(2), pp.161-164, 1992.
 32. Gornall, A. G., Bardawill, C. J. and David, M. M.: *J. Biol. Chem.*, 177, p.751, 1949.
 33. Higashi, T., Tateishi, N. and Sakamoto, Y.: Liver glutathione as a reservoir of L-cys-

- teine. In : *Sulfur Amino Acids, : Biochemical and Clinical Aspects*, pp.397-410, Alan R. Liss, New York, 1983.
34. Hodgson, E., Mailman, R. B. and Chambers, J. E. : In *Dictionary of Toxicology*, pp.18-19, MacMillan Reference Books, London, 1987.
 35. Karmen, A. : A noted on the spectrophotometric assay of glutamic oxaloacetic transaminase in human blood serum, *J. Clin. Invest.*, 34, pp.131-133, 1955.
 36. Konobu, K., Yamamoto, E., Toyomoto, M. and Sawanishi, K. : Effect of uremic middle molecules removed during hemofiltration on the enzyme activity in rat liver cytosol, *Nippon-Jinzo-Gakkai-Shi*, 33(1), pp.1105-1110, 1991.
 37. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193, pp.265-275, 1951.
 38. MacDonald, J. R., Thayer, K. J. and White, C. : Inhibition of galactosamine cytotoxicity in an *in vivo/in vitro* hepatocellular toxicity model, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 89(2), pp. 269-277, 1987.
 39. Ohkwa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. : Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction, *Anal Biochem.*, 95, pp.351-358, 1979.
 40. Petkoba, J., Popova, N. and Kemileva, Z. : Changes of enzyme activity in some organs following thymectomy, *Agressologie.*, 14(5), pp.323-326, 1973.
 41. Reitman, S. and Frankel, S. : A colorimetic method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, *Am. J. Clin. Pathol.*, 28, pp.58-63, 1957.
 42. Suematsu, T. and Abe, H. : In : *Lipid peroxides in Biology and Medicine*(Yaki, K., ed.), pp.285-293, Academic Press, New York, 1982.