

生藥 複合 製劑의 藥效 研究(第17報)

補中益氣湯이 消化器系, 血壓 및 呼吸에 대한 作用과 利尿作用에 미치는 影響

洪南斗 · 張仁圭 · 李相日 · 金南宰
慶熙醫療院

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

Effects of "Bojungikgi-Tang" on the Digestive System, Blood Pressure and Diuretic Actions

Nam Doo HONG, In Kyu CHANG, Sang Il LEE and Nam Jae KIM

Kyung-Hee Medical Center, Seoul 131, Korea

Abstract—Attempts were to investigate the effects of "Bojungikgi-tang" on the digestive system, blood pressure and diuresis. The results showed that relaxing action was shown on the isolated ileum in mice and that strong antagonistic actions were seen on BaCl₂, acetylcholine and histamine-induced contraction of the ileum in mice and guinea-pigs that the relaxing effect of the intestinal smooth muscle was recognized. Inhibitory effects on transport rate in the small intestine of mice and castor oil-induced catharsis in mice were noted. Inhibitory action on the secretion of gastric juice, pH ascending effect and decreasing effect of the free acidity and total acidity were recognized. Continuous hypotensive action was seen, but when the vagus nerve was cut, hypotensive action was remarkably decreased. The diuretic effect was also recognized.

Keywords—Antigastric secretion · intestinal propulsion · hypotensive · diuresis · isolated ileum · mice · guinea-pig

前報(第16報)에서 補中益氣湯에 對하여 漢方古書에 收錄된 適應症과 近來臨床에서 많이 活用되고 있는 效能을 追究코저 鎮痛效果 解熱效果 鎮靜 및 睡眠效果에 對하여 報告한바 있다. 著者등은 前報에 이어 補中益氣湯에 對한 研究의 一環으로 摘出腸管에 對한 作用, 消化管輸送能에 對한 效果, 抗瀉下效果, 胃液分泌에 對한 效果, 血壓 및 呼吸에 對한 作用과 利尿效果에 對하여 實驗한 結果 知見을 얻었기에 報告한다.

實 驗

1. 實驗材料 및 實驗動物

1) 實驗材料 및 檢液

實驗材料 및 檢液은 特別히 明示하지 않는 限 前報와 同一한 것을 使用하였다.

2) 實驗動物

本 實驗에서 使用한 實驗動物은 기니아 픽(우) 體重300~400g을 使用하였으며 그 外의 實驗動物 및 飼育方法과 實驗條件은 前報에서와 同一하다.

2. 實驗 方法

1) 摘出腸管에 대한 作用

생쥐, 흰쥐 및 기니아 픽의 摘出回腸을 利用하여 Magnus法^{2,3)}에 따라 實驗하였다. 收縮藥으로는 acetylcholine chloride(以下 Ach.) 1×10^{-7} g/ml, histamine dihydrochloride(以下 His.) 1×10^{-6} g/ml와 BaCl₂(以下 Ba[#].) 3×10^{-4} g/ml을 利用하여 檢液에 對한 作用과 收縮藥에 對한 作用을 檢討하였다.

2) 消化管輸送能에 대한 作用⁴⁻⁶⁾

18時間 絶食시킨 생쥐 1群을 10마리로 하여 檢液 10.0, 5.0, 2.5mg/10g씩 經口投與하고 30分後에 5% 活性炭未溶液(溶媒: 10% arabia gum 溶液) 0.2ml/mouse를 經口投與하였다. 活性炭未溶液投與 20分 後에 撲殺시켜 開腹하여 小腸을 摘出하고 아래 式으로 부터 活性炭未 移動率을 算出하였다.

$$\text{移動率} = \frac{\text{活性炭未의 移動距離}}{\text{胃幽門部位로 부터 盲腸口까지의 길이}} \times 100$$

3) 抗瀉下作用^{4,8)}

생쥐 1群을 10마리로 하여 檢液投與 1時間 前부터 濾紙上에 放置하여 下痢를 일으키지 않는 正常의 생쥐를 選別하여 使用하였다. 檢液 10.0, 5.0, 2.5mg/10g씩 經口投與 3時間 後에 45% castor oil(溶媒: olive oil) 0.1ml/10g을 經口投與하고 1時間 간격으로 4時間에 걸쳐서 糞便을 觀察하였다. 下痢狀態는 다음의 判定基準에 따라 評價하였다. 1...正常便, 2...軟便(便의 形態가 붕괴되지 않은 것), 3...軟便(便의 形態가 붕괴된 것), 4...下痢便.

4) 胃液分泌에 대한 作用^{8,9)}

흰쥐 1群을 5마리로 하고 24時間 絶食시키고 Shay法⁸⁾에 따라 ether 麻醉下에 胃幽門部를 結紮하였다. 檢液 100, 50, 25mg/100g을 各各 幽門結紮直後에 經口投與하고 絶食 絶水下에 4時間 放置한 後 實驗動物을 斷頭致死하고 胃를 摘出하였다. 이때 胃에 貯留된 胃液分泌量, pH, 遊離酸度 및 總酸度を 測定하였다. 遊離酸度 및 總酸도는 指示藥 Töpfer試藥과 phenolphthalein 試藥을 使用하여 0.01N-NaOH 溶液으로 滴定하여 算出하였으며, 胃液分泌量은 檢液投與量을 빼

서 算出하였다.

5) 血壓 및 呼吸에 대한 作用¹⁰⁻¹³⁾

家兔를 使用하여 urethane 1.5g/kg을 腹腔內 注射하여 麻醉시킨 後 常法에 따라 右側 頸動脈에 水銀 manometer에 連結된 動脈 cannula를 插入하고 氣管에는 呼吸 tambour에 連結된 氣管 cannula를 插入하여 血壓과 呼吸運動을 同時に 描記시켰다. 이때 血壓과 呼吸運動이 一定하게 되었을 때에 檢液을 耳靜脈에 注射하여 血壓과 呼吸에 對한 作用과 vagotomy 後의 變化를 觀察하였다.

6) 利尿作用

鈴木等의¹⁴⁾ 方法에 따라 흰쥐 1群을 5마리로 하여 實驗開始 12時間前부터 絶食시키고 물만 自由롭게 供給하였다. 12時間 絶食시킨 實驗動物에 미리 加溫한 生理食鹽水液을 胃 catheter로 2.5ml/100g씩 經口投與하고 이어서 檢液 100, 50, 25 mg/100g을 各各 經口投與하였다. 1마리씩 stainless製 代謝 cage에 넣어 5時間 尿를 採取하여 計量한 後 3,000rpm에서 15時間 遠心分離한 上 清尿를 얻었다. 採尿直後 ether로 가볍게 麻醉시킨 後 斷頭하여 採血하고 heparin(K.P.IV)으로 處理한 遠心分離管에 血液을 넣고 3,000rpm에서 20 時間 遠心分離하여 血漿을 分離하였다.

① 尿 및 血漿中の 電解質測定

尿 및 血漿中の sodium과 potassium ion을 flame photometer(Corning-435)로, chloride ion은 Corning Analyzer-925(England)로 測定하였다.

② 血漿中の urea nitrogen 含量測定

Urease-Indophenol法에¹⁵⁻¹⁷⁾ 따라 各試驗管에 血漿 0.02ml, 標準液(50mg/dl) 0.02ml, 蒸溜水 0.02ml를 各各 넣고 urease-buffer溶液 2ml를 加하여 잘 混合한 後 37°C에서 15時間 加溫하고 發色試藥 2ml를 加하여 37°C에서 10時間 加溫하고 室溫에서 blank를 對照로 하여 570nm에서 spectrophotometer(MPS-6,000, Shimadzu)로 吸光度를 測定하여 아래式으로 부터 算出하였다.

$$\text{Urea nitrogen 含量(mg/dl)} = \frac{Es}{Estd} \times 50$$

Es: 檢液의 吸光度, Estd: 標準液의 吸光度

③ 血漿中の creatinine 含量測定

Alkali-Picric acid法^{18,19)}에 準하여 各試驗管에

血漿 0.5ml를 加하고 除蛋白 呈色試藥 4ml를 加하여 잘 混合한 다음 20分間 放置한 後에 3,000 rpm에서 10分間 遠心分離하였다. 上清液 3ml, 標準液(5mg/dl) 3ml, 蒸溜水 3ml를 各各 試驗管에 取하고 0.4N-NaOH溶液 1ml씩 加하여 20分間 室溫에서 放置한 다음 blank를 對照로 하여 520nm에서 spectrophotometer로 吸光度를 測定하여 아래 式으로 부터 算出하였다.

$$\text{creatinine含量(mg/dl)} = \frac{Es}{Estd} \times 5$$

Es : 檢液의 吸光度

Estd: 標準液의 吸光度

實驗 結果

1) 摘出腸管에 대한 效果

Fig. 1에 表示한 바와 같이 생쥐 摘出回腸運動에 對하여 檢液 1×10^{-2} g/ml에서 강한 弛緩效

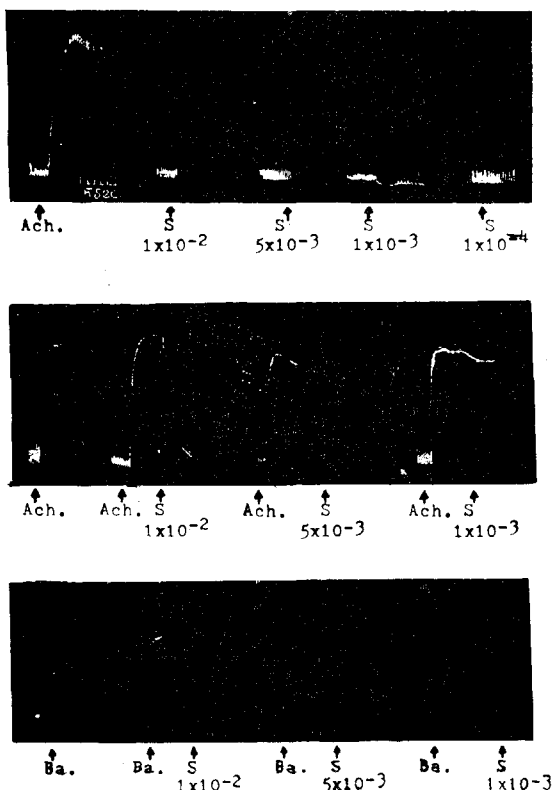


Fig. 1. Effect of bojungikgi-tang on the ileum of mice. (Magnus method)
Ach.: Acetylcholine chloride 1×10^{-7} g/ml.
Ba.: $BaCl_2$ 3×10^{-4} g/ml.

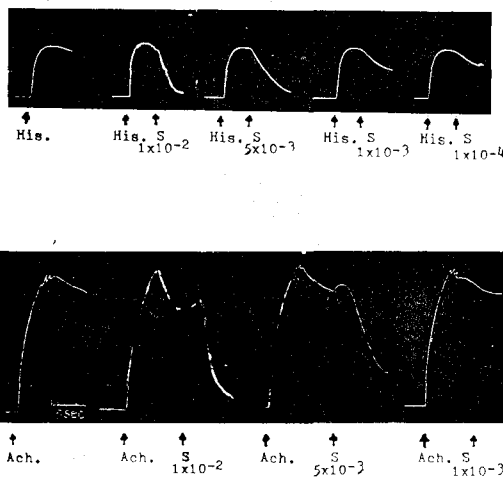


Fig. 2. Effect of bojungikgi-tang on the ileum of guinea-pigs. (Magnus method)
His.: Histamine dihydrochloride 1×10^{-6} g/ml.
Ach.: Acetylcholine chloride 1×10^{-7} g/ml.

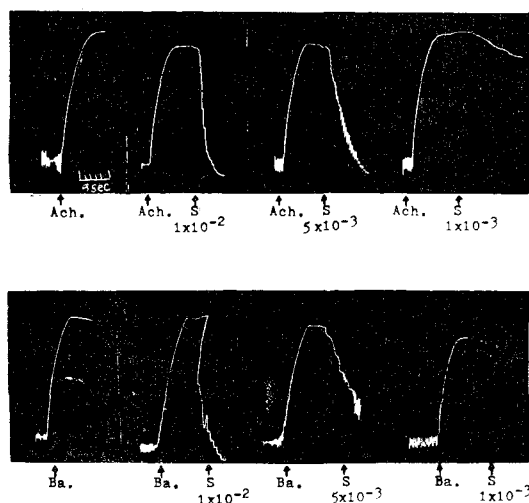


Fig. 3. Effect of bojungikgi-tang on the ileum of rats. (Magnus method)
Ach.: Acetylcholine chloride 1×10^{-7} g/ml.
Ba. : $BaCl_2$ 3×10^{-4} g/ml.

果를 나타내었고, Ach 1×10^{-7} g/ml 및 $Ba^{+} 3 \times 10^{-4}$ g/ml에 의한 收縮에 對해서도 濃度增加에 따라 抑制作用이 增大됨을 알 수 있었다. 흰쥐 摘出回腸에 對해서 Ach. 1×10^{-7} g/ml와 $Ba^{+} 3 \times 10^{-4}$ g/ml에 의한 收縮에 對하여 檢液 1×10^{-2} g/ml投與로 강한 結抗作用을 나타내고 濃度依存的으로 나타남을 觀察할 수 있었다(Fig. 2).

또한 모르모트 摘出回腸의 His. 1×10^{-6} g/ml와

Ach. 1×10^{-7} g/ml에 의한 收縮에 對하여 檢液 1×10^{-4} , 1×10^{-3} , 5×10^{-3} , 1×10^{-2} g/ml의 濃度 增加에 따라 抑制效果가 增加됨을 認知할 수가 있었다(Fig. 3).

2) 消化管輸送能에 대한 效果

생쥐의 活性炭末溶液 腸管輸送能에 對한 檢液의 效果는 Table I에 나타낸 바와 같이 10% arabia gum 溶液을 投與한 對照群은 59.9 ± 2.62 (%)을 나타내었으며 檢液 10mg/10g 投與群에서 40.8 ± 2.02 (%)로 $p < 0.001$ 의 有意性이 있는 腸管輸送能抑制作用이 認定되었고, 低濃度 5.0,

Table I. Effect of bojungikgi-tang on charcoal transport in small intestine of mice.

Groups	Dose (mg/10g, p. o.)	Number of animals	Transport rate (%)
Control	—	10	59.9 ± 2.62^a
Sample	10.0	10	$40.8 \pm 2.02^{***}$
Sample	5.0	10	54.6 ± 1.65
Sample	2.5	10	61.5 ± 2.76

a): Mean \pm standard error
 Statistical significance. *** $p < 0.001$.

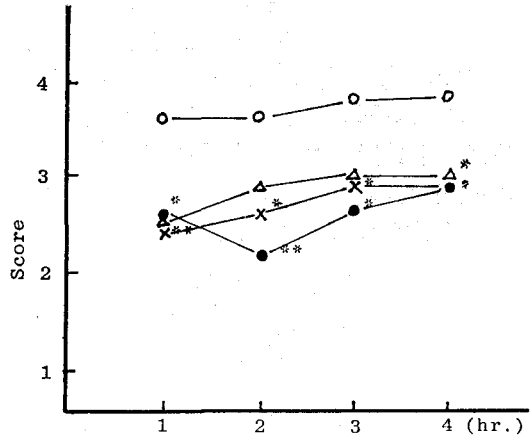


Fig. 4. Effect of bojungikgi-tang on cathartic action of castor oil in mice.

Score: 1, normal feces
 2, loose feces (slight)
 3, loose feces (serious)
 4, diarrhea
 ○: Control. ●: Sample 10mg/10g
 ×: Sample 5.0mg/10g
 △: Sample 2.5mg/10g
 Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

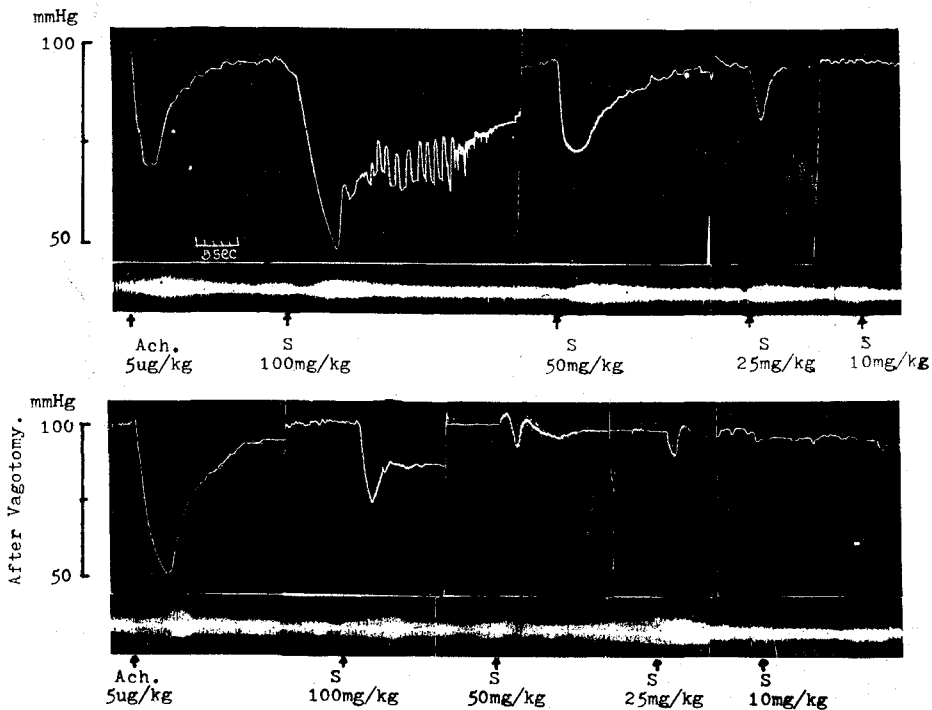


Fig. 5. Effect of bojungikgi-tang on the blood pressure and respiration in anesthetized rabbits. Ach.: Acetylcholine chloride.

2.5mg/10g 投與群은 별다른 效果를 觀察할 수가 없었다.

3) 抗瀉下效果

Castor oil에 對한 檢液의 抗瀉下效果는 Fig. 4에 나타내었다. 檢液 10.0mg/10g 經口投與 2時間 後에 $p < 0.01$ 의 有意性이 있는 castor oil 下痢에 對한 抗瀉下作用이 認定되었으며. 用量依存的으로 抗瀉下效果를 觀察할 수 있었다.

4) 胃液分泌에 대한 效果

Shay의 幽門結紮法에 依한 檢液의 胃液分泌에 對한 效果는 Table II에 表示하였다. 檢液 100mg/100g 投與群에서 $p < 0.001$ 의 有意性이 있는 胃液分泌抑制效果와 pH值上昇效果가 認定되었고, 遊離酸度 및 總酸도에 對해서는 $p < 0.01$ 의 有意性이 있는 減少效果가 認定되었지만 低濃度 50, 25mg/100g 投與群에서는 별다른 作用이 認定되지 않았다.

5) 血壓 및 呼吸에 대한 效果

家兎의 頸動脈血壓 및 呼吸에 對한 效果는

Fig. 5에 나타난 바와 같이 檢液 100mg/kg 耳靜脈投與에 依해서 持續的인 血壓降下作用이 나타났으며, 用量依存的인 效果를 認定할 수 있으며 呼吸은 血壓降下時에 亢進됨을 觀察할 수 있었다. 또한 兩側頸部 迷走神經을 絶斷하였을 때에 血壓降下作用이 현저하게 減少함을 보였으며, 呼吸도 역시 亢進됨을 알 수 있었다.

6) 利尿效果

① 尿量 및 尿中電解質變化에 對한 效果

尿量에 對하여 檢液 250, 500, 1,000mg/kg 投與에 依해서 用量依存的으로 增加됨을 나타내고, 500, 1,000mg/kg 投與群은 對照群에 比하여 各 各 1.7倍와 2.9倍의 增加效果를 나타내었다. 또한 尿中の Na^+ , K^+ 및 Cl^- 의 排泄에 對해서는 尿量의 경우와 마찬가지로 用量依存的인 增加作用을 表示하였으며, 500, 1,000mg/kg 投與群에서는 對照群에 比하여 Na^+ 排泄은 各 各 1.7倍와 3.7倍, K^+ 排泄은 1.7倍와 2.5倍, Cl^- 排泄은 各 各 1.9倍와 4.6 倍의 增加를 表示하였다. 이 경

Table II. Effect of bojungikgi-tang on gastric juice secretion in pylorus-ligated rats

Groups	Dose (mg/100g, p. o.)	Number of animals	Volume (ml/100g b. w.)	pH	Free acidity (mEq/l)	Total acidity (mEq/l)
Control	—	5	2.5±0.13	1.5±0.06	62.1±4.21	87.8±1.87 ^{a)}
Sample	100	5	1.5±0.10***	2.3±0.10***	37.1±3.75**	77.1±1.76**
Sample	50	5	1.6±0.05***	2.4±0.05***	59.4±3.75	85.6±1.85
Sample	25	5	2.5±0.11	1.5±0.03	65.4±4.41	93.2±1.93

a): Mean±standard error.
** $p < 0.01$. *** $p < 0.001$.

Table III. Effect of bojungikgi-tang on urinary volume and electrolyte excretion in normal rats

Groups	Dose (mg/kg, p. o.)	Urinary Volume ml/5hr.	Na^+ mEq/5hr.	K^+ mEq/5hr.	Na^+/K^+	Cl^- mEq/5hr.
Control	—	0.94±0.17 (100)	0.11±0.01 (100)	0.06±0.01 (100)	1.70±0.15	0.08±0.01 (100)
Sample	1,000	2.70±0.19*** (287)	0.41±0.01*** (373)	0.15±0.01*** (250)	2.72±0.04***	0.37±0.01*** (463)
Sample	500	1.60±0.10** (170)	0.19±0.01*** (173)	0.10±0.01** (167)	1.94±0.06	0.15±0.01*** (188)
Sample	250	0.96±0.10 (102)	0.11±0.01 (100)	0.07±0.01 (117)	1.68±0.10	0.09±0.01 (113)
Furosemide	20	9.00±0.32*** (957)	0.68±0.05*** (618)	0.46±0.02*** (767)	3.69±0.13***	0.87±0.14*** (1088)

a): Mean±standard error obtained from 5 rats.
Numbers in parentheses represent percentage of the control.
Statistical significance: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Table IV. Effect of bojungikgi-tang on plasma electrolyte, urea nitrogen and creatinine levels in normal rats

Groups	Dose (mg/kg, p.o.)	Na ⁺ mEq/l	K ⁺ mEq/l	Cl ⁻ mEq/l	Urea nitrogen mg/dl	Creatinine mg/dl
Control	—	144.0±0.28 ^{a)} (100)	6.2±0.16 (100)	107.6±0.60 (100)	11.04±0.87 (100)	0.73±0.04 ^{a)} (100)
Sample	1,000	144.2±0.52 (100)	6.5±0.49 (105)	104.4±1.12 (97)	16.70±0.67 ^{***} (151)	0.83±0.01* (114)
Sample	500	149.0±1.10 (103)	6.1±0.10 (98)	108.4±1.82 (100)	14.86±0.42 ^{**} (134)	0.79±0.01 (108)
Sample	250	143.6±1.07 (100)	6.3±0.40 (102)	102.4±0.22 (95)	12.17±0.46 (110)	0.74±0.02 (101)
Furosemide	20	138.4±0.46 (96)	6.7±0.20 (108)	103.0±1.77 (96)	22.36±1.18 (203)	0.85±0.01* (116)

a): Mean±standard error obtained from 5 rats.

Statistical significance: *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001.

Numbers in parentheses represent percentage of the control.

우 Na⁺/K⁺는 對照群 1.70에 對하여, 500mg/kg 投與群은 1.94, 1,000mg/kg 投與群은 2.72로 높은 數値를 나타내었으며, 對照藥物 furosemide 20mg/kg 投與群보다는 若干 弱한 作用을 나타냈음을 알 수 있었다(Table III).

② 血漿質 電解質, urea nitrogen 및 creatinine 含量에 對한 效果

檢液 및 對照藥物 furosemide 共히 血漿中의 Na⁺, K⁺ 및 Cl⁻值에 對해서는 全연 影響을 주지 않았다. 그러나 urea nitrogen 含量에 對해서는 檢液 500, 1,000mg/kg 投與群에서는 各各 p<0.01과 p<0.001의 有意性이 있는 增加效果를 나타내었으며, creatinine 含量에 對해서는 檢液 1,000mg/kg 投與群에서 p<0.05의 有意性이 있는 增加效果를 認定할 수 있었다(Table IV).

考察 및 結論

前報에서 鎮痛效果 解熱效果 鎮靜效果 및 pentobarbital의 睡眠에 對한 延長效果를 實驗한데 이어서 摘出腸管에 對한 作用, 消化管輸送能에 對한 作用, 抗瀉下作用, 胃液分泌에 對한 作用, 血壓 및 呼吸에 對한 作用과 利尿作用에 미치는 效果를 比較考察한 바 다음과 같다.

생쥐의 回腸管 自動運動에 對하여 檢液 1×10⁻²g/ml 投與에 依해서 強한 弛緩作用을 나타내었으며, Ach와 Ba²⁺에 依한 收縮에 對해서 濃度增加에 따라 抑制效果가 增加됨을 나타내었다.

흰쥐의 回腸管에 對해서 Ach와 Ba²⁺에 依해서 收縮된 腸管에 對하여 檢液 1×10⁻²g/ml 投與로 強한 拮抗作用을 나타내고 濃度依存的으로 效果가 나타남을 알 수 있었으며, 또한 모르모트의 回腸管의 His.와 Ach에 依한 收縮에 對해서도 檢液의 濃度增加에 따라 強한 抑制效果를 認知할 수 있었다. 鶴見等²⁰⁾은 acetylcholine, histamine, serotonin 및 BaCl₂에 依한 腸管收縮作用에 對하여 同時에 拮抗作用을 나타내었을 때에는 自律神經에 關한 것이 아니고 平滑筋에 關한 直接作用임을 밝힌 바 있다.

생쥐의 小腸輸送能에 對한 檢液의 效果는 檢液 10.0mg/10g 經口投與로 p<0.01의 有意性이 있는 小腸輸送能 抑制作用을 나타내었으며, castor oil 下痢에 對한 抗瀉下作用도 認定되었다. In vitro 實驗系에서 생쥐, 흰쥐 및 모르모트 回腸管에 對해서 抗 acetylcholine, 抗 BaCl₂ 및 抗 histamine 效果가 認定되어 檢液의 消化器系 平滑筋에 對하여 鎮痙作用이 示唆되어지며, in vivo 實驗系에서 消化管輸送能 抑制效果 및 castor oil 下痢에 對한 抗瀉下效果에 對해서도 鎮痙作用의 關與가 示唆되어지는 것으로 思料되어진다.

Shay의 幽門結紮法에 依한 檢液의 胃液分泌에 對한 效果는 檢液 100mg/100g 經口投與에 依해서 有意性이 있는 胃液分泌量 抑制作用, pH上昇效果, 遊離酸度 및 總酸度 減少效果가 認定되었다.

血壓은 家兔의 頸動脈血壓實驗에서 檢液 100

mg/kg 耳靜脈注射로 持續的인 血壓降下效果를 나타내었으며, 한편 兩側頸部迷走神經切斷時에 血壓降下效果가 顯著하게 減少되는 것으로 보아 迷走神經系를 介在한 反射的 機構에 依한 것이 아닌가 思料되어진다. 呼吸은 檢液投與로 血壓降下時에 亢進됨을 나타내었으며 vagotomy 後에도 역시 呼吸이 亢進됨을 觀察할 수 있었다.

正常 暈吐에 對한 利尿效果에 對하여 實驗한 結果 250, 500, 1,000mg/kg 投與로 尿量, 尿中의 Na^+ , K^+ 및 Cl^- 排泄이 有意한 增加作用을 나타내고 濃度增加에 따라 效果가 增大되는 것을 認知할 수 있었으며 이 利尿效果는 比較藥物 furosemide 20mg/kg 投與群보다는 若干 떨어지는 效果를 나타내었다. 血漿中의 Na^+ , K^+ 및 Cl^- 含量에 對하여 檢液 및 比較藥物 投與로 別다른 變化를 觀察할 수 없었으며 urea nitrogen 과 creatinine 含量은 檢液 1,000mg/kg 投與로 有意한 增加作用이 認定되었다.

以上과 같은 實驗結果로 보아 補中益氣湯은 생쥐, 흰쥐 및 모르모트 回腸管의 筋原性 弛緩效果와 消化管平滑筋에 對한 鎮座作用이 關與하는 것으로 示唆되어지는 消化管輸送能 抑制作用 및 castor oil 下痢에 對한 抗瀉下作用, 胃液分泌量抑制效果, pH上昇效果, 遊離酸度 및 總酸度 減少效果, 持續的인 血壓降下作用과 利尿作用을 나타냄을 認知할 수 있었다.

謝辭 一 本 研究의 一部는 慶熙醫療院 研究費 支援으로 이루어 졌으며 이에 感謝드립니다.

〈1984년 2월 16일 접수; 5월 10일 수리〉

文 獻

1. 洪南斗 等 : 생약학회지, 15, 87 (1984).
2. 高木敬次郎, 小澤光 : 藥物學實驗, p. 94. p. 133, 南山堂(1970).
3. 久保信治 等 : 藥學雜誌, 101, 174 (1981).
4. 加藤正秀 等 : 生藥學雜誌, 36, 134 (1982).
5. 石井康子 等 : 藥學雜誌, 101, 254 (1981).
6. 桜井鎮夫 等 : 應用藥理, 21, 521 (1981).
7. 野上 壽 等 : 藥效의 評價(1), p. 1024, 地人書館 (1971).
8. Shay, H., et al.: *Gastroenterology*, 5, 43 (1945).
9. 加藤正秀 等 : 生藥學雜誌, 36, 350 (1982).
10. 洪南斗 : 慶熙藥大論文集, 5, 27 (1977).
11. 洪承喆 : 釜山大學校論文集, 第18輯, 自然科學論, p. 97 (1974).
12. 古家敏夫 : 日藥理誌, 55, 1152 (1959).
13. 田村豊幸 : 藥理學實驗法, p. 338, 協同醫書出版, (1972).
14. 鈴木良雄 等 : 日藥理誌, 79, 317 (1982).
15. 柴田 進, 北村元任 : 日常臨床生化學定量法, 中山書店, p. 417, (1964).
16. 齊藤正行, 內田敬嗣, 鈴木惠美子 : 臨床檢査, 8, 878 (1964).
17. Fawcett, J.W. et al.: *J. Clin. Path.*, 13, 156 (1960).
18. 柴田 進 : 臨床化學의 實技(定量篇), 金原出版社, p. 326 (1971).
19. Miller, B.F. et al.: *J. Biol. Chem.*, 121, 447 (1937).
20. 鶴兒介登 等 : 日藥理誌, 72, 41 (1976).