

## 가미과루해백황금탕의 항고지혈증 효과

정은아 · 김윤경<sup>1</sup> · 김남재\* · 김동현<sup>2</sup> · 이상인<sup>1</sup>  
경희대학교 동서의학연구소, <sup>1</sup>한의학대학, <sup>2</sup>약학대학

## Studies on the Antihypercholesterolemic Effects of Gamigwaruhaebaekwhanggum-Tang

Eun-Ah JUNG, Yun-Kyung KIM<sup>1</sup>, Nam-Jae KIM\*, Dong-Hyun KIM<sup>2</sup> and Sang-In LEE<sup>1</sup>

East-West Medical Research Institute, <sup>1</sup>College of Oriental Medicine and  
<sup>2</sup>College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130-702, Korea

(Received March 16, 2001; accepted June 13, 2001)

**Abstract** – Gamigwaruhaebaekwhanggum-Tang (GGHWT) have been evaluated for antihyperlipidemic effects on experimental hyperlipidemic rats and mice induced by Triton WR-1339, corn oil and high cholesterol-diet. Especially, GGHWT is formulated with *Trichosanthis Fructus*, *Pinelliae Tuber*, *Aurantii Immaturus Fructus*, *Magnoliae Cortex*, *Allii Macrostermi Bulbus*, *Cinnamomi Ramulus* and *Scutellariae Radix*. Oral administration of GGHWT at 500 mg/kg/day for 3 days significantly inhibited the increase of serum triglyceride and LDL-cholesterol, liver triglyceride in hyperlipidemic rats induced by Triton WR-1339. And, GGHWT significantly inhibited the increase of serum triglyceride in hyperlipidemic rats induced by corn oil. Also, administration of GGHWT (500 mg/kg, once daily for 1 week, p.o.) prevented the increase of serum total cholesterol, triglyceride, LDL-cholesterol, liver total cholesterol and triglyceride in 1% cholesterol-diet fed mice. These results suggest that GGHWT is effective for the treatment of hyperlipidemia.

**Key words** □ Gamigwaruhaebaekwhanggum-Tang, hyperlipidemia, Triton WR-1339, high cholesterol diet, corn oil, hypolipidemic activity

고지혈증은 동맥경화증, 관상동맥성 질환(Coronary Heart Disease, CHD) 등 심혈관질환의 발증과 밀접한 관련이 있다는 것이 밝혀졌으며 근년에는 인간의 삶의 질(Quality of Life, QOL) 향상을 위하여 중요한 factor가 되고 있다. (Blankenhorn 등, 1993; Jukema 등, 1995; MASS investigator, 1994; Scandinavian Simvastatin Survival Study Group, 1994) Cholesterol 중 특히 low density lipoprotein(LDL) cholesterol이 심혈관계 질환 발병의 중요한 위험인자 중의 하나임이 보고되고 있다. 약물요법을 통하여 LDL-cholesterol을 낮추게 함으로써 CHD 등에 기인하는 사망률을 낮아진다고 하는 보고가 있고(La Rosa 등, 1990), 현재 고지혈증 치료약물의 개발을 위한 많은 연구가 진행되고 있다.

저자 등은 고지혈증 치료약물을 한방약물로부터 개발하고자 하는 연구의 일환으로 수종의 한약 및 방제를 screening 하여 그 중에서도 항고지혈증 활성이 비교적 강한 약물로 가미과루해백황금탕을 얻었다(정 등, 2001). 가미과루해백황

금탕은 한의학에서 고지혈증과 유사한 증후인 흉통 등에 이용되고 있는 과루해백주탕과 과루해백반하탕 및 지실해백계지탕을 합방하여 제조 하였다(이극광, 1994; 이동건, 1996). 이어서 이 방제를 구성하고 있는 개개 약물의 양을 변화시켜 수종의 방제를 구성하고 이를 검체로 하여 *in vitro*에서 HMG-CoA reductase 저해활성, DPPH free radical scavenger 효과, 지질과산화 형성억제효과 및 LDL 산화억제효과 등을 지표로 평가한 바 가미과루해백주탕, 가감과루해백주탕 및 가미과루해백황금탕에서 유효한 활성이 있음을 밝혔다(정 등, 2001).

이에 저자 등은 이들 방제의 *in vivo*에서 항고지혈증 활성을 검토하여 유효한 고지혈증 한방치료약물의 개발에 관한 일련의 연구로서 가미과루해백탕 및 가감 방제의 항고지혈증 활성을 규명하고자 하였다. Triton WR-1339, corn oil 및 고 cholesterol 식이 등으로 유발된 고지혈증 병태모델 동물에 가미과루해백주탕, 가감과루해백주탕 및 가미과루해백황금탕을 투여하여 혈청 및 간조직 중의 지질함량 변동을 통해서 고지혈증 개선효과를 검토하여 그 결과를 보고하고자 한다.

\*To whom correspondence should be addressed.

## 실험방법

### 실험재료

본 실험에서 사용한 과루실, 해백, 지실, 반하, 후박, 계지, 황금은 경동시장 소재 동경약업사(주)와 신성약업상(주)에서 구입하여 엄선한 것 중에서 그기원을 확인하여 사용하였고 voucher specimen은 본 연구소에 보관하고 있다.

### 시료의 조제

금궤요략(이극광, 1994; 이동건, 1996)의 처방내용을 기준으로 하여 개개 시료를 80% 에탄올로 추출하여 동결건조한 것을 처방내용에 따라 추출율을 고려하여 혼합하여 사용하였으며 그 내용은 다음과 같다. 가미과루해백주탕(이하 STP-I)은 과루실 12g, 해백 9g, 반하 12g, 지실 12g, 후박 12g, 계지 6g, 그리고, 여기에 과루실, 지실 및 계지를 배로 증량한 가감과루해백주탕(이하 STP-II)는 과루실 24g, 해백 9g, 반하 12g, 지실 24g, 후박 12g, 계지 12g로 구성하도록 하였다. 또한 가감과루해백주탕(STP-II)에 황금을 가한 가미과루해백황금탕(이하 STP-III)은 과루실 24g, 해백 9g, 반하 12g, 지실 24g, 후박 12g, 계지 12g, 황금 6g의 조합으로 구성하였다. 양성 대조약물로 사용한 lovastatin 정제는 분쇄하여 분말로 하고, fenofibrate는 capsule를 제거하여 각각 균등하게 현탁하여 사용하였다.

### 시약 및 기구

시약으로 Triton WR-1339는 Sigma사(미국), cholesterol은 Yakuri Pure Chemical사(일본), cholic acid는 Fluka사(스위스) 제품을 사용하였으며, total cholesterol, triglyceride 및 HDL-cholesterol 측정용 kit 시약은 아산제약(주), LDL-cholesterol 측정용 kit 시약은 bioMerieux 사(프랑스), lovastatin(20 mg/tab 메바코® 정)는 중외제약(주), fenofibrate(100 mg/cap 노리포® 캡셀)는 건일제약(주)을 사용하였으며 그 이외의 시약은 일급시약을 사용하였다.

본 실험에 사용한 기구는 homogenizer(EYELA Co., MAZELA Z Type-1100, 일본), ultra centrifuger(Vision Co., VS-35000, 한국), 분광광도계(Shimadzu Co., Model UV-160A, 일본), 감압농축기(EYELA Co., Model NE-1, 일본), 동결건조기(EYELA Co., Model FD-1, 일본) 등을 사용하였다.

### 실험동물

실험동물로는 성북구 소재 중앙동물사육장로부터 분양받은 ICR계 30g 전후 웅성 생쥐와 Sprague-Dawley계 체중 250g 전후 웅성 흰쥐를 실험실 환경에 1주 이상 순응시킨 후 사용하였다. 사료로는 삼양유지사료(주)의 고행사료를 이용하였으며 물을 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였고, 실험

은 특별히 명시하지 않는 한 24±2°C에서 실시하였다.

### Triton WR-1339 투여 유발 고지혈증 흰쥐에 미치는 영향

Triton WR-1339 투여로 유발된 고지혈증 흰쥐에서의 항고지혈증 활성 검색은 Kusama 등(1988)의 방법에 준하였다. 즉, 흰쥐 1군을 6마리로 하여 검액 가미과루해백주탕(STP-I), 가감과루해백주탕(STP-II) 및 가미과루해백황금탕(STP-III) 각각 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 1일 1회 3일간 경구투여하고 최종투여가 Triton WR-1339 투여 1시간 전이 되도록 하였다. Triton WR-1339 투여 16시간 전부터 절식시킨 후 Triton WR-1339 200 mg/kg를 꼬리 정맥에 주사하여 고지혈증을 유발시킨 후 18시간 후에 ether 마취하여 심장 채혈하였고 즉시 치사시켜 간을 적출하였다. 대조군에는 검체 대신 생리식염수만을 경구투여하였으며, 정상군에는 Triton WR-1339 대신 saline을 정맥주사하였다. 양성대조약물로는 lovastatin 50 mg/kg을 사용하여 비교관찰하였다.

### 30% Corn oil 유발 고지혈증 흰쥐에 대한 영향

Corn oil 처치로 유발된 고지혈증 병태 모델의 작성은 Duhault 등(1976)의 방법에 준하였다. 즉 흰쥐 1군을 6마리로 하여 검액을 각각 경구투여하고 2시간 후에 corn oil 3g/kg를 경구투여하였다. Corn oil 투여 2시간 후에 심장으로부터 채혈하였다. 검체는 Triton WR-1339 유발 고지혈증에 대한 유의한 항고지혈증 효과를 보인 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 각각 경구투여하였고, 대조군에는 검체 대신 생리식염수만을 경구투여하였으며, 정상군에는 corn oil 대신 saline을 경구투여하였다. 양성대조약물로는 fenofibrate 800 mg/kg를 투여하여 비교관찰하였다.

### 고 Cholesterol 식이 유발 고지혈증 생쥐에 미치는 작용

고지혈증 유발용 사료의 조제 및 병태모델의 작성은 Niiho 등(1990)의 방법에 준하였다. 고 cholesterol 식이는 정상 식이용 동물사료를 분쇄한 후 4호체로 쳐서 1% cholesterol, 0.25% cholic acid, 2.5% olive oil을 가하여 잘 혼합하여 사용하였다. 생쥐 1군을 7마리로 하여 고 cholesterol 식이로 2주간 사육하고 계속하여 검액을 각각 1일 1회 1주간 경구투여하면서 고 cholesterol 식이로 사육하였다. 채혈 및 간의 적출은 검액 최종 투여하고 하루 저녁 절식시킨 후 ether로 가볍게 마취하여 심장채혈하였으며, 즉시 치사시켜 간을 적출하였다. 정상군은 정상식으로 사육하였으며 대조군과 정상군에는 생리식염수를 검액 대신에 투여하였고 검액 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg을 1일 1회 1주일간 경구투여하였다. 양성대조약물로는 lovastatin 50 mg/kg을 경구투여하여 비교관찰하

였다.

검정하였다.

### 혈청 분리 및 간 중의 지질추출

채혈한 혈액은 실온에서 방치한 후 3,000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 혈청을 분리하여 혈청 지질성분 triglyceride(이하 TG), total cholesterol(이하 TC), low density lipoprotein cholesterol(이하 LDL-C) 및 high density lipoprotein cholesterol(이하 HDL-C) 함량을 각각 아래의 방법에 따라 측정하였다. 적출한 간은 Folch의 지질 추출법(Folch 등, 1957)에 따라 간을 잘게 썰어 CHCl<sub>3</sub>-MeOH(2:1)를 가하여 2시간씩 2회 환류추출하여 여과하여 여액을 합하였다. 여액을 5배의 증류수로 세척한 후 농축해서 10% Triton X-100/isopropanol에 용해하여 간중 지질성분 TG 및 TC 함량을 아래의 방법에 따라 측정하였다.

### 혈청 및 간 중 지질성분측정

혈청 및 간 중 TC 함량 측정은 Allain 등(1974)의 효소법, TG 함량 측정은 Saldesai 등(1968)의 효소법에 준하여 측정하였다. 그리고, 혈청 중 HDL-C 함량은 Lopes(1982)의 효소법 및 LDL-C 함량은 Mainard 등(1986)의 효소법에 준하여 혈청중 지질측정용 kit시약을 사용하여 측정하였다.

### 통계학적 분석

모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며, 자료분석은 Student's t-test를 이용하여 p<0.05 수준에서 유의성을

### 실험결과

#### Triton WR-1339 유발 고지혈증 흰쥐에서 항고지혈 효과

Triton WR-1339 처치로 유발된 병태모델 흰쥐에 가미과루해백주탕(STP-I), 가감과루해백주탕(STP-II) 및 가미과루해백황금탕(STP-III)을 각각 경구 투여하여 혈청 중 TC, TG, LDL-C 함량에 대한 혈청지질함량의 변화를 지표로 하여 그 결과를 Table I에 나타내었다

우선 혈청 중 TG 함량에 대해서는 흰쥐에 Triton WR-1339 처치 대조군은 727.5±22.9 mg/dl로 비처치 정상군 149.0±15.5 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. 검액 처치군 중에서 가미과루해백주탕(STP-I), 가감과루해백주탕(STP-II) 및 가미과루해백황금탕(STP-III) 각각 500 mg/kg 투여군에서 혈청 중 TG함량은 428.4±48.5 mg/dl, 285.0±38.7 mg/dl, 247.2±8.9 mg/dl로 대조군에 비하여 각각 p<0.001의 유의한 상승억제효과가 인정되었으며, 저농도 100 mg/kg 투여군에서도 각 검액 공히 대조군에 비하여 유의한 혈청중 TG함량 상승억제효과를 관찰할 수 있었다. 한편 혈청 중 TC 함량은 흰쥐에 Triton WR-1339 처치 대조군은 180.9±8.7 mg/dl로 비처치 정상군 79.6±3.0 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었고 검액 가미과루해백주탕(STP-I), 가감과루해백주탕(STP-II) 및 가미과루해백황금탕(STP-III) 투여군에서는 별다른 변

**Table I.** Effects of *Gamigwaruhaebaekwhangum-Tang* on Serum Triglyceride, Total Cholesterol and Low density lipoprotein Levels in Triton WR-1339 Induced Hyperlipidemic Rats

Group	Dose (mg/kg, p.o)	Serum lipid levels(mg/dl)		
		Triglyceride	Total cholesterol	LDL-cholesterol
Normal	-	149.0 ± 15.5	79.6 ± 3.0	18.2 ± 1.8
Control	-	727.5 ± 22.9 <sup>####</sup>	180.9 ± 8.7 <sup>####</sup>	67.2 ± 3.6 <sup>###</sup>
STP-I	100	538.2 ± 38.3(32.7)**	174.3 ± 4.1(6.6)	69.5 ± 6.1 (-4.7)
	500	428.4 ± 48.5(51.7)***	170.7 ± 9.4 (10.1)	69.2 ± 7.5 (-4.2)
STP-II	100	596.5 ± 45.0(22.7)*	191.7 ± 11.0 (-10.6)	73.2 ± 2.6 (-12.3)
	500	285.0 ± 38.7(76.5)***	165.7 ± 10.1 (15.0)	53.7 ± 3.8(27.6)*
STP-III	100	477.5 ± 23.0(43.2)***	175.1 ± 4.8 (5.7)	62.0 ± 4.0 (10.5)
	500	247.2 ± 8.9(83.0)***	175.0 ± 4.0 (5.9)	49.0 ± 2.1(37.2)**
Lovastatin	50	266.2 ± 22.7(79.7)***	167.0 ± 5.44 (13.7)	46.8 ± 1.7(41.6)**

Values are means ± S.E. of 6 rats

STP-I: *Gamigwaruhaebaekbaekju-Tang* (Allii *Macrostemi* Bulbus : *Aurantii* Immaturus Fructus : *Cinnamomi* Ramulus: *Magnoliae* Cortex : *Pinelliae* Tuber: *Trichosanthis* Fructus=9:12:6:12:12:12), STP-II : *Gagamigwaruhaebaekbaekju-Tang* (Allii *Macrostemi* Bulbus : *Aurantii* Immaturus Fructus : *Cinnamomi* Ramulus : *Magnoliae* Cortex : *Pinelliae* Tuber : *Trichosanthis* Fructus=9:24:12:12:12:24), STP-III : *Gamigwaruhaebaekwhangum-Tang*(Allii *Macrostemi* Bulbus: *Aurantii* Immaturus Fructus : *Cinnamomi* Ramulus: *Magnoliae* Cortex : *Pinelliae* Tuber : *Trichosanthis* Fructus : *Scutellariae* Radix=9:24:12:12:12: 24:6)

The values in parenthesis are % of protection that is calculated as 100(values of Triton WR-1339 control-values of sample)/(values of Triton WR-1339 control-values of normal)

#Significantly different from the normal value (####p<0.001)

\*Significantly different from the control value (\*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001)

**Table II.** Effects of *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang* on Liver Total Cholesterol and Triglyceride Contents in Triton WR-1339 Induced Hyperlipidemic Rats

Group	Dose (mg/kg, p.o)	Liver lipid contents (mg/g Liver)	
		Triglyceride	Total cholesterol
Normal	-	8.9 ± 0.2	10.9 ± 0.2
Control	-	11.3 ± 0.3 <sup>###</sup>	15.4 ± 0.6 <sup>###</sup>
STP-III	100	9.6 ± 0.5 <sup>**</sup> (71.3)	15.2 ± 0.4 (4.4)
	500	8.6 ± 0.5 <sup>***</sup> (114.0)	14.7 ± 0.4 (15.6)
Lovastatin	50	8.1 ± 0.7 <sup>***</sup> (132.5)	14.8 ± 0.4 (13.3)

Values are means ± S.E. of 6 rats

STP-III : *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang*

Compositions of STP-III is shown in Table I

The values in parenthesis are % of protection that is calculated as 100(values of Triton WR-1339 control-values of sample)/(values of Triton WR-1339 control-values of normal)

<sup>#</sup>Significantly different from the normal value (<sup>###</sup>p<0.001)

<sup>\*</sup>Significantly different from the control value(<sup>\*\*</sup>p<0.01 and <sup>\*\*\*</sup>p<0.001)

화를 관찰할 수 없었다.

LDL-C 함량은 흰쥐에 Triton WR-1339 처치 대조군이 67.2±3.6 mg/dl로 비처리 정상군 18.2±1.8 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. 검액 처치군 중에서 가미과루해백황금탕(STP-II) 및 가미과루해백황금탕(STP-III) 각각 500 mg/kg 처치군에서 53.7±3.8 mg/dl와 49.0±2.1 mg/dl로 대조군에 비하여 각각 p<0.05, p<0.01의 유의한 상승억제효과를 나타내었으며 가미과루해백황금탕(STP-I) 처치군에서는 별다른 영향을 미치지 못하였다. 양성비교약물 lovastatin 50 mg/kg 투여군에서도 TG, LDL-C 함량은 유의한 감소효과가 관찰되었으나 TC 함량에 있어서는 별다른 차이가 나타나지 않았다.

혈청중 지질함량을 지표로 하여 Triton WR-1339 유발 고지혈증 흰쥐에서 각 검체의 효과를 평가한 바 황금이 가미된 가미과루해백황금탕(STP-III)에서 유의한 항고지혈증 효과가 관찰되어 STP-III을 처치한 흰쥐의 간조직 중의 지질함량을 측정하여 그 결과를 Table II에 나타내었다. 그 결과 간중의 TG 함량은 Triton WR-1339 처치 대조군에서는 11.3±0.3 mg/g liver로 비처리 정상군 8.9±0.2 mg/g liver에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. 검체 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 9.6±0.5 mg/g liver와 8.6±0.5 mg/g liver로 대조군에 비하여 각각 p<0.01, p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 한편 간중에 함유된 TC 함량은 흰쥐에 Triton WR-1339 처치 대조군은 15.4±0.6 mg/g liver로 비처리 정상군 10.9±0.2 mg/g liver에 비하여 유의한 상승

**Table III.** Effects of *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang* on Serum Triglyceride and Total Cholesterol Levels in 30% Corn oil Induced Hyperlipidemic Rats

Group	Dose (mg/kg, p.o)	Serum lipid levels (mg/dl)	
		Triglyceride	Total cholesterol
Normal	-	65.0 ± 8.0	40.5 ± 2.1
Control	-	207.9 ± 5.4 <sup>###</sup>	51.5 ± 3.3 <sup>##</sup>
STP-III	100	99.1 ± 12.3 <sup>***</sup> (76.2)	49.3 ± 2.2 (19.5)
	500	90.2 ± 11.1 <sup>***</sup> (82.4)	48.3 ± 2.9 (29.1)
Fenofibrate	800	128.6 ± 7.3 <sup>***</sup> (55.5)	46.0 ± 4.2 (50.0)

Values are means ± S.E. of 6 rats

STP-III : *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang*

Compositions of STP-III is shown in Table I

The values in parenthesis are % of protection that is calculated as 100(values of corn oil control-values of sample)/(values of corn oil control-values of normal)

<sup>#</sup>Significantly different from the normal value (<sup>##</sup>p<0.01 and <sup>###</sup>p<0.001)

<sup>\*</sup>Significantly different from the control value (<sup>\*\*\*</sup>p<0.001)

을 나타내었으나 검액 처치군에서는 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 양성비교약물 lovastatin 50 mg/kg 투여군에서도 TG함량은 유의한 감소효과가 관찰되었으나 TC함량에 있어서는 별다른 차이가 나타나지 않았다.

**30% Corn oil 유발 고지혈증 흰쥐에 대한 영향**

Corn oil 처치에 의한 고지혈증 병태모델 흰쥐에 대한 검액의 효과를 평가하여 그 결과를 Table III에 제시하였다. 혈청 중 TG의 함량은 corn oil 처치군에서 207.9±5.4 mg/dl로 비처리 정상군 65.0±8.0 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 99.1±12.3 mg/dl와 90.2±11.1 mg/dl로 대조군에 비하여 모두 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다.

혈청 중 TC의 함량은 corn oil 처치군에서 51.5±3.3 mg/dl로 비처리 정상군 40.5±2.1 mg/dl에 비하여 p<0.01의 유의한 상승을 나타내었고, 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 49.3±2.2 mg/dl, 48.3±2.9 mg/dl로 대조군에 비하여 다소 억제시키는 경향을 나타내었다. fenofibrate 800 mg/kg을 양성 비교약물로 사용하여 비교한 결과 유의한 항고지혈증 효과가 관찰되었다. LDL-C 함량에는 검액처치로 별다른 차이를 관찰할 수 없었다(Table 생략).

**고 Cholesterol 식이 유발 고지혈증 생쥐에 미치는 작용**

**Table IV.** Effects of *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang* on Serum and Liver Triglyceride and Total Cholesterol Levels in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Mice

Group	Dose (mg/kg, p.o)	Serum lipid levels (mg/dl)		Liver lipid contents (mg/g Liver)	
		Triglyceride	Total cholesterol	Triglyceride	Total cholesterol
Normal	-	54.4 ± 0.9	89.7 ± 2.0	2.61 ± 0.15	0.86 ± 0.03
Control	-	167.5 ± 9.9 <sup>###</sup>	167.7 ± 4.3 <sup>###</sup>	3.70 ± 0.20 <sup>###</sup>	2.38 ± 0.06 <sup>###</sup>
STP-III	100	70.7 ± 5.9 <sup>***</sup> (86.2)	138.9 ± 12.5 <sup>*</sup> (36.9)	2.57 ± 0.16 <sup>***</sup> (103.9)	1.60 ± 0.13 <sup>***</sup> (50.9)
	500	53.1 ± 5.6 <sup>***</sup> (101.2)	130.5 ± 7.4 <sup>***</sup> (47.7)	2.47 ± 0.13 <sup>***</sup> (112.9)	1.37 ± 0.09 <sup>***</sup> (66.6)
Lovastatin	50	68.0 ± 4.3 <sup>***</sup> (88.0)	134.0 ± 6.3 <sup>***</sup> (43.2)	2.66 ± 0.11 <sup>***</sup> (95.2)	1.80 ± 0.08 <sup>***</sup> (37.7)

Values are means ± S.E. of 7 mice

STP-III : *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang*

Compositions of STP-III is shown in Table I

The values in parenthesis are % of protection that is calculated as 100(values of high cholesterol diet control-values of sample)/(values of high cholesterol diet control-values of normal)

#Significantly different from the normal value (###p<0.001)

\*Significantly different from the control value (\*p<0.05 and \*\*\*p<0.001)

고cholesterol 혈증 생쥐에 대한 검액의 효과를 혈청 중 TG 및 TC 함량을 지표로 하여 검토한 결과를 Table IV에 제시하였다. 그 결과 혈청 중 TG의 함량은 고 cholesterol 식이 처치군에서 167.5±9.9 mg/dl로 정상군 54.4±0.9 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었다. 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 70.7±5.9 mg/dl와 53.1±5.6 mg/dl로 대조군에 비하여 모두 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 또한, 혈청 중 TC의 함량은 고 cholesterol식이 처치군에서 167.7±4.3 mg/dl로 비처리 정상군 89.7±2.0 mg/dl에 비하여 p<0.001의 유의한 상승을 나타내었고, 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 138.9±12.5 mg/dl와 130.5±7.4 mg/dl로 대조군에 비하여 p<0.05 및 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 그리고, 간을 적출하여 간중에 함유된 지질함량에 대한 검액의 영향을 평가하고자 상법에 따라 간중의 지질을 추출하여 TG 및 TC함량을 측정된 결과를 Table IV에 제시하였다. 그 결과 간중의 TG함량은 고 cholesterol식이 처치 대조군은 3.70±0.20 mg/g liver로 정상군 2.61±0.15 mg/g liver에 비하여 유의한 상승을 나타내었다. 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 2.57±0.16 mg/g liver과 2.47±0.13 mg/g liver로 대조군에 비하여 각각 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 한편 간조직 중에 함유된 TC 함량에 있어서 고 cholesterol 식이 처치 대조군은 2.38±0.06 mg/g liver로 정상군 0.86 ±0.03 mg/g liver에 비하여 유의한 상승을 나타내었다. 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각 1.60±0.13 mg/dl liver와 1.37±0.09 mg/dl

**Table V.** Effects of *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang* on Serum Low density lipoprotein and High density lipoprotein Levels in High Cholesterol Diet Induced Hyperlipidemic Mice

Group	Dose (mg/kg, p.o)	Serum lipoprotein levels(mg/dl)	
		LDL-cholesterol	HDL-cholesterol
Normal	-	15.3 ± 0.7	22.3 ± 1.0
Control	-	38.3 ± 2.4 <sup>###</sup>	18.2 ± 0.6 <sup>###</sup>
STP-III	100	30.3 ± 2.9 <sup>*</sup> (34.7)	18.5 ± 1.2 (7.7)
	500	29.6 ± 1.9 <sup>**</sup> (37.8)	18.9 ± 0.3 (17.6)
Lovastatin	50	27.5 ± 2.6 <sup>**</sup> (47.0)	20.0 ± 1.5 (43.9)

Values are means ± S.E. of 7 mice

STP-III : *Gamigwaruhaebaekhwanggum-Tang*

Compositions of STP-III is shown in Table I

The values in parenthesis are % of protection that is calculated as 100(values of high cholesterol diet control-values of sample)/(values of high cholesterol diet control-values of normal)

#Significantly different from the normal value(###p<0.001)

\*Significantly different from the control value (\*\*p<0.05 and \*\*p<0.01)

liver로 대조군에 비하여 각각 p<0.001의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 양성비교약물로 사용한 lovastatin 50 mg/kg 투여군에서도 간이나 혈청중의 TC, TG 모두에서 p<0.01의 유의한 항고지혈증 효과가 관찰되었다.

Lipoprotein의 일종인 LDL-C 및 HDL-C 함량에 영향을 검토한 결과를 Table V에 나타내었다. LDL-C 함량은 고 cholesterol식이 처치군에서 38.3±2.4 mg/dl로 정상군 15.3

$\pm 0.7$  mg/dl에 비하여  $p < 0.001$ 의 유의한 상승을 나타내었고, 가미과루해백황금탕(STP-III) 100 mg/kg 및 500 mg/kg 처치군에서 각각  $30.3 \pm 2.9$  mg/dl와  $29.6 \pm 1.9$  mg/dl로 대조군에 비하여  $p < 0.05$  및  $p < 0.01$ 의 유의한 상승억제효과를 나타내었다. 그리고, HDL-cholesterol에 대해서는 고cholesterol 식이 처치군에서는  $18.2 \pm 0.6$  mg/dl로 비처치 정상군  $22.3 \pm 1.0$  mg/dl에 비하여  $p < 0.001$ 의 유의한 감소를 보였으며 검액 가미과루해백황금탕(STP-III) 처치군에서는 검액 처치로 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 양성비교 약물로 사용한 lovastatin 50 mg/kg 투여군에서도 LDL 함량의 경우  $p < 0.01$ 의 유의한 감소가 나타났고 HDL함량은 약간의 증가는 관찰되었으나 유의성은 나타나지 않았다.

## 고 찰

고지혈증은 일반적으로 혈청 중 total cholesterol 또는 triglyceride 함량이 기준범위를 넘어 높게 증가된 상태를 말하며 저 HDL-C 혈중이나 고 LDL-C 혈중도 포함된다. 그러나 혈장지질의 함량은 영양상태나 생활조건에 따라서 크게 좌우됨으로 많은 역학조사를 통하여 그 함량의 범위를 정하고 있다(산본장, 1998).

고지혈증은 죽상동맥경화증 등 심혈관계 질환의 발증과 밀접한 관계가 있고 근래에 HMG-CoA reductase 저해효과를 지닌 약물을 투여한 여러 대규모 임상시험결과에서 인간의 사망률은 물론 Coronary Heart Disease(CHD)에 의한 사망률을 현저히 감소시킴을 보고하고 있다(La Rosa, 1990). 특히, 고지혈증환자에서는 일반적으로 뚜렷한 자각증상이 나타나지 않아 인간의 삶의 질(QOL)을 풍요롭게 하고 생명의 예후를 개선시키기 위해서는 고지혈증의 치료는 매우 중요하다고 생각된다.

본 연구에서는 한방약물로부터 고지혈증 치료약물을 개발하기 위한 연구의 일환으로서 과루해백주탕, 과루해백반하탕, 지실해백계지탕을 기본방제로 하여 조성된 수종의 방제 중에서 *in vitro*에서 HMG-CoA reductase 저해활성, 과산화지질 형성억제 효과, DPPH에 대한 항산화효과 및 LDL 항산화효과 등을 종합한 결과로 가미과루해백주탕(STP-I)과 여기에 구성약물중 지실, 과루실, 계지의 용량을 증량한 조합 가미과루해백주탕(STP-II), 그리고 여기에 황금을 조합한 가미과루해백황금탕(STP-III)에서 비교적 양호한 결과를 도출할 수 있었다.(정 등, 2001)

따라서, 우선 *in vivo*에서 고지혈증에 대한 저해효과를 검토하기 위하여 cholesterol 생합성에 관여하는 기전에 의하여 고지혈증 병태모델이 작성되어 지는 Triton WR-1339 유발 고지혈증 병태모델 흰쥐를 이용하여 평가하고자 하였다. Triton WR-1339 또는 Tween 80과 같은 계면활성제를 투여하면 혈중의 cholesterol과 triglyceride를 상승시키며,

이는 cholesterol 합성에 관여하는 효소에 영향을 미치고 triglyceride의 배설을 억제하여 실험적 고지혈증 병태모델이 유발되는 것으로 알려져 있다(Hirsch 등, 1956; Goldfarb, 1978, 대하만생, 1998).

실험 결과 혈중 TG 함량은 Triton WR-1339 처치 대조군은 비처치 정상군에 비하여 약 390%의 유의한 증가를 보였으며, 검액 STP-I, STP-II 및 STP-III 각각 고농도 투여군에서는 51.7%, 76.5% 및 83.0%의 유의한 치료효과가 인정되었고 각 검액 공허 농도의존적으로 혈중 TG 상승억제효과가 인정되었다. 그리고, 혈중 TC 함량에 대해서는 Triton WR-1339 처치 대조군은 비처치 정상군에 비하여 약 130%의 유의한 상승을 보였고, 검액 처치군에서는 별다른 영향을 주지 못하였다. LDL-C 함량에 대해서는 대조군에서는 정상군에 비하여 약 270%의 유의한 상승을 나타내었고 검액 STP-II 및 STP-III 500 mg/kg 투여군에서는 각각 27.6% 와 37.2%의 유의한 치료효과가 인정되었다. 혈청 중 지질함량을 지표로 항고지혈증 효과를 평가한 바 황금이 가미된 가미과루해백황금탕(STP-III) 처치군에서 비교적 유의한 항고지혈증 효과가 관찰되어 STP-III 투여군의 흰쥐 간을 적출하여 지질함량을 측정하여 비교평가하였다. 그 결과 TC 함량에 대해서는 별다른 영향을 미치지 못하였으나 TG 함량에 대해서는 Triton WR-1339 처치 대조군은 비처치 정상군에 비하여 약 30%의 유의한 증가를 나타냈으며 검액 STP-III 100 mg/kg 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 71.3%와 114.0%의 유의한 치료효과가 인정되었으며 특히 고농도 처치군에서는 정상치 이하로 저하되었다. 양성비교 약물 lovastatin 50 mg/kg 투여군에서도 유의한 항고지혈증 효과가 인정되었다.

특히 검액 STP-II에 황금을 가미한 가미과루해백황금탕(STP-III)이 STP-I 및 STP-II에 비하여 양호한 항고지혈증 효과가 인정되었으며 이는 *in vitro*에서 HMG-CoA reductase 저해효과, LDL 산화억제효과, DPPH free radical scavenger 효과 등의 정 등(2001)의 실험결과와도 일치하였다. 그러므로, Triton WR-1339 처치에 의한 고지혈증 병태모델의 작성이 생체 내에서 cholesterol 생합성에 관여하는 것으로 알려져 있어 가미과루해백황금탕(STP-III)의 항고지혈증 작용 기전의 일부는 cholesterol 생합성 저해에 기인하는 것으로 사료된다.

Triton WR-1339 처치로 유발된 고지혈증 흰쥐에서 가미과루해백황금탕(STP-III) 처치군이 비교적 양호한 항고지혈증 효과가 인정되어 기전이 다른 corn oil 처치에 의한 고지혈증 병태모델 흰쥐에 대한 검액의 효과를 평가하였다. 외인성 고지혈증을 유발시키는 방법으로 olive oil이나 corn oil과 같은 유지를 대량 투여하여 장관에서의 지방흡수 억제 또는 lipoprotein lipase활성에 기인하는 triglyceride분해 촉진효과의 검색에 사용되는 비교적 용이한 방법으로 알려

져 있으며(소택광, 1984), 본 실험에서는 corn oil를 이용하였다. Corn oil 처치에 의해 유발된 병태모델의 경우 TC에 비해 TG의 수치가 더욱 증가하므로 TG 저해에 더욱 효과를 나타내는 양성비교약물인 fenofibrate를 사용하여 비교한 결과, corn oil 대량 투여에 의하여 유발된 고지혈증 흰쥐에서 대조군에 비하여 혈청 중 TG 함량은 STP-III 500 mg/kg 투여군에서 약 82.4%의 유의한 치료효과가 인정되었고 fenofibrate 800 mg/kg 투여군의 55.5%저해에 비해 우수한 항고지혈증 효과를 관찰할 수 있었다. 혈중 TC 함량은 corn oil 처치로 정상군에 비하여 상승시켰으나 검액 투여로 별다른 영향을 주지 못하였다.

외인성 고지혈증을 유발시키는 방법의 하나로 고 cholesterol 식이로 사육한 생쥐 또는 흰쥐에서 혈청 중 cholesterol은 약 2배 이상 상승하고 간지질 cholesterol을 현저하게 증가시킬 뿐만 아니라 triglyceride량도 증가하는 양상을 보인다(김 등, 2000; 노 등, 1994). 본 실험에서는 1% cholesterol 함유 고 cholesterol 식이를 3주간 투여하여 유발된 고 cholesterol 혈증 생쥐에서 혈청 지질 TC, TG 및 LDL-C 함량과 간 중의 TC 및 TG 함량이 유의하게 증가되어 고 cholesterol 혈증의 병태모델이 작성되었다. 고 cholesterol 혈증 생쥐에서 검액 가미과루해백황금탕(STP-III) 처치군에서는 유의한 혈청 지질함량의 개선효과 및 간지질 함량의 개선효과가 인정되었다. 특히 혈청 TC 함량을 지표로 한 경우 STP-III 500 mg/kg 투여군에서는 대조군에 비하여 약 101%의 치료효과가 인정되었고, 양성비교약물 lovastatin 50 mg/kg 투여군의 치료효과 88.0%에 비하여 우수한 혈청 TC 함량의 개선효과가 인정되었다.

이상의 실험결과를 토대로 방제학적 측면과 *in vivo*에서 현대과학적으로 고지혈증 치료약물 개발을 위한 screening 방법을 이용하여 가미과루해백황금탕을 개발하였으며, 이 방제는 과루실, 해백, 지실, 반하, 후박, 계지, 황금으로 구성되어 있다. 앞으로 가미과루해백황금탕의 유용성을 계속 검토하여 임상에 활용할 수 있는 자료로 제공하고자 한다.

### 감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것(HMP-99-O-11-0009-A)이며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Allain, C. C., Poon, L. S., Chan, C. S. G., Richmond, W. and Fu, P. C. (1974) Enzymatic determination of total serum cholesterol. *Clin. Chem.* **20**, 470-475.
- Blankenhorn D. H., Azen S. P., Krams D. M., Mack W. J., Cashin-Hemphill L and Hodis H. N. (1993) Coronary angiographic changes with lovastatin therapy. The Monitored Atherosclerosis Regression Study(MARS). The MARS Research Group. *Ann Intern Med.* **119**, 969-976.
- Duhault, J., Boulanger, M., Beregi, L., Sicot, N. and Bouvier, F. (1976) A new type of hyperlipidemic agent comparative assay in rats. *Atherosclerosis* **23**, 63-72.
- Folch, J., Lee, M. and Sloanstanley, G. H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
- Goldfarb, S. (1978) Rapid increase in hepatic HMG-CoA reductase activity and *in vivo* cholesterol synthesis after Triton WR-1339 injection. *J. Lipid Res.* **19**, 489-494.
- Hirsch, R. L. and Keller, A. (1956) The pathogenesis of hyperlipidemia induced by means of surface-active agents. I. Increased total body cholesterol in mice given Triton WR-1339 parenterally. *J. Exp. Med.*, **104**, 1-13.
- Jukema J. W., Bruschke A., van Boven A., Reiber J., Bal E. T., Zwinderman A. H., Jansen H., Boerma G., van Rappard F. M and Lie K. I. (1995) Effect of lipid lowering by pravastatin on progression and regression of coronary artery disease in symptomatic men with normal to moderately elevated serum cholesterol levels. *Circulation* **91**, 2528-2540.
- Kusama, H., Nishiyama, M. and Ikeda, S. (1988) Pharmacological investigation of bezafibrate, a hypolipidemic agent (I). Effect of bezafibrate on normal and experimental hyperlipidemia in rats. *Folia pharmacol. japon* **92**, 175-180.
- La Rosa J. C., Hunninghake D., Bush D., Criqui M. H., Getz G. S and Gotto A. M Jr (1990) The cholesterol facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol, and coronary heart disease. A joint statement by the America Heart Association and the national heart, Lung and Blood Institute. The Task Force on Cholesterol Issue, American Heart Association. *Circulation* **81**, 1721-1733.
- Lopes-Virella, M. F. (1982) Cholesterol determination in high density lipoproteins separated by three different methods. *Clin. Chem.*, **23**, 882-884.
- Mainard, F. and Madec, Y. (1986) Cholesterol, phospholipid and apo B composition of LDL; Comparison of precipitation and ultracentrifugation methods. *Ann. Biol. Clin.* **44**, 618-623.
- MASS investigators (1994) Effect of simvastatin on coronary atheroma: the multicenter anti-atheroma study (MASS). *Lancet* **344**, 633-638.
- Niiho, H., Yamazaki, T., Nakajima, Y., Itoh, H., Takeshita, T., Kinjo, Jun-ei and Nohara, T. (1990) Pharmacological Studies on Puerariae Flos. II. The effects of Puerariae Flos on Alcohol-Induced Unusual Metabolism and Experimental Liver Injury in Mice. *Yakugaku Zasshi* **110**, 604-611.
- Sardesai, V. M. and Mannig J. A. (1968) The determination of triglycerides in plasma and tissues. *Clin. Chem.* **14**, 156-158.
- Scandinavian Simvastatin Survival Study Group (1994) Randomised atrial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin

- Survival Study(4S). *Lancet* **344**, 1383-1389.
- 김남재, 정은아, 김동현, 이상인 (2000) 한방약물로부터 항고지혈증 치료약물개발(2). 수종 한약재의 항고지혈증 효과. *생약학회지* **31**(2), 190-195.
- 노환성, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭 (1994) 고지혈증 동물모델 설정을 위한 식이처방의 실험적 연구. *약제학회지* **24**(4), 297-300.
- 李克光 主編 : 금궤요략. 서울, 아울로스 출판사, pp.218-225 (1994).
- 李東建 編著 : (國譯) 금궤요략, 서울, 서원당, pp.136-138 (1996).
- 정은아, 김남재, 김윤경, 김동현, 이상인 (2001) 한방약물로부터 항고지혈증 치료약물개발(3) *In vitro*에서 가미과루해백황금탕 및 구성약물의 항고지혈증 활성. *생약학회지* **32**(1), 22-30.
- 大荷滿生, 秦 葭哉 (1998)HMG-CoA還元酵素阻害薬. *内科*. **81**(2), 283-287.
- 山本 章 (1998) 日本人における高脂血症の疫學. *内科*. **81**(2), 237-242.
- 小澤 光 (1984) 新薬開発のための薬效スクリーニング法(I). p.83-111, 丸 善, 東京.