

생약의 물 추출물에 대한 혈소판 활성화인자 수용체 결합 저해활성 검색

한병훈* · 양현옥 · 김용철 · 한용남

서울대학교 천연물과학연구소

(Received June 11, 1994)

Screening of the Platelet Activating Factor(PAF) Antagonistic Activities on Herbal Medicines

Byung Hoon Han*, Hyun Ok Yang, Yong Chul Kim and Yong Nam Han

Natural Products Research Institute, Seoul National University,

28 Yeunkeun-dong, Jongno-ku, Seoul 110-460

Abstract— Hot aqueous extracts of 130 herbal medicines were screened for platelet activating factor (PAF) receptor binding antagonistic activity using rabbit platelet. The results suggested that 4 medicinal plants including *Biota orientalis* are potential sources of PAF antagonists.

Keywords □ Platelet Activating Factor(PAF), *Biota orientalis*, *Daphne genkwa*, *Polygonum cuspidatum*, *Sophora subprosarata*

혈소판 활성화 인자(Platelet Activating Factor, 이하 PAF라 함)는 면역반응시 각종 면역 담당세포에서 방출되어¹⁾ 혈소판 막에 있는 수용체에 결합하여 혈소판을 활성화 시키고, 각종 세포들(혈소판, 백혈구 등)의 응집반응 및 이와 관련된 여러가지 세포내 생화학적 반응을 개시하여 일어나는 말초 순환 장애와 깊이 관련되어 있다.²⁻⁴⁾ 또한 염증,⁵⁾ 천식,⁶⁾ 장기이식에 대한 거부반응,⁷⁾ 아나필락시스,⁸⁾ 내독소에 의한 쇼크,⁹⁾ 위궤양,¹⁰⁾ 알러지¹¹⁾와 같은 병리적 반응과 깊이 관련되어 있음이 최근 연구에 의하여 밝혀지고 있다. 종전에 알려진 각종 autacoid(히스타민, 류코트리엔, 프로스타그란딘)들 보다 1/1000~1/10000의 저농도에서 이들 autacoid들의 합성 또는 방출을 일으켜 과격한 면역반응으로 인한 자기 파괴적인 병리적 반응의 개시인자로 알려지고 있다. PAF 길항제는 PAF가 혈소판의 막에 있는 수용체와 결합하는 것을 방해하는 물질로서 PAF의 수용체 결합이 방해받고 있는 동안에 혈장 중의 가수분해 효소(acetyl hydroxylase) 등에 의하여 lyso-PAF로 분해되어 불활성화 되기 때문에

자기 방어적인 면역반응에 대해서는 그대로 두고 그 후속반응인 자기 파괴적인 반응을 막아줄 수 있을 것이라는 기대하에 많이 연구되고 있는 물질이다.

현재까지 알려진 PAF에 대한 특이적인 길항제는 PAF 구조 관련 길항제와 천연물에서 유래한 길항제로 크게 나눌 수 있으며, 주로 합성품인 PAF 화학 구조 유사체는 이미 많은 연구가 진행되어 있다.^{12,13)} 그리고, 천연물에서 유래한 PAF 길항제도 몇 가지 알려져 있는데 그들의 구조를 알아 보면, PAF의 구조와 전혀 관련이 없으면서도 강한 활성을 나타내며, 지금까지 알려져 있는 길항제들도 여러 계열의 물질들이어서 천연물로부터 기대할 수 있는 PAF 길항제는 그 구조에서 매우 광범위한 다양성이 예측된다. 천연물에서 유래한 PAF 길항제로는 ginkgolide,¹⁴⁾ kadsurenone¹⁵⁾ 등 다수 보고된 바 있지만, 국내 생약 자원에서는 보고된 바 없다. 이에, 본 연구에서는, 지금까지와는 다른 화학 구조를 가진 PAF 길항제가 국내 생약 중에 있을 것이라는 기대하에, 민간과 한방에서 각종 말초 순환장애(류마티즘, 천식, 혈전증, 알러지성 질환 등)에 사용하고 있는 국내 생약¹⁶⁾ 130종을 대상으로 PAF

*본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

수용체 결합 저해 활성을 검색하였다.

실험 방법

시약 및 기기

³H-PAF는 Amersham Co.에서, bovine serum albumin(Fraction V, 이하 BSA라 함)은 Boehringer Mannheim Co.에서, PAF(cold form, C₁₆-PAF), 2,2'-p-phenylenebis(5-phenyloxazole) (이하 POPOP라 함), 2,5-diphenyloxazol(이하 PPO라 함)은 Sigma Co.에서 구입하였다. 그외 다른 시약은 특별한 언급이 없는 한 1급 시약(EP)을 사용하였다. 본 연구에 사용한 기기는 pH meter(Analab 88), centrifuge(RT 6000, Sorvall Co.), platelet counter(Chronolog Co., Model PLT-4), cell harvester(Skatron Co.), GF-C filter(Skatron Co., glass fiber), liquid scintillation counter(Hewlett Packard Co.), scintillation vial(Boehringer Mannheim Co., 6 ml) 등이다.

실험 동물 및 생약 원료

토끼는 체중 2~3 kg 되는 수컷(White)을 사용하였으며, 본 실험에 사용한 모든 생약은 시중 한의원 에서 구입한 건조 생약을 원료로 하였다.

PAF 수용체 결합 저해 활성 측정

혈소판 현탁액의 조제—ACD 용액(trisodium citrate 2.5%, citric acid 1.37%, glucose 2%) 1 용량을 주사기에 미리 취한 후 토끼(2~3 kg, White, male)의 심장에서 혈액을 5 용량 취하여 섞은 후 1200 rpm에서 10분간 원심분리하여 platelet rich plasma(이하 PRP라 한다)를 얻었다. PRP를 다시 3000 rpm에서 10분간 원심분리하여 혈소판 pellet을 모아, Tris-tyrode buffer(pH 7.3, 0.01M)를 가하여 섞은 후 다시 원심분리하여 얻은 혈소판 pellet에 적량의 buffer (0.25% BSA 함유)를 가하여 2×10⁸ cell/ml이 되도록 희석하였다.

³H-PAF 용액의 조제—³H-PAF 일정량을 취하여 질소 기류로 용매를 제거한 후 완충액(0.01M Tris-tyrode buffer, pH 7.3, 0.25% BSA) 일정량(최종농도 1.2 nM이 되도록)을 가하여 약 2분간 sonication 하였다.

PAF 수용체 결합 저해 활성 실험 조건—Valone

의 방법¹⁷⁾을 일부 변형하여 측정하였다.¹⁸⁾ 즉 total binding은 검액 25 μl에 혈소판 현탁액 200 μl를 가한 후 6분간 preincubation하고, ³H-PAF(60,000 dpm, 최종농도 0.6 nM)를 가하여 60분간 배양한 후 여과 하였다. Nonspecific binding은 ³H-PAF 용액 대신 ³H-PAF와 cold-PAF의 혼액(최종농도 ³H-PAF 0.6 nM, cold-PAF 300 nM) 25 μl를 가하였으며, control은 검액 대신 증류수(혹은 saline) 25 μl를 사용하였다. 반응중단은 위에서 사용한 완충액으로 여지(Skatron Co.)를 미리 적신후 cell harvester를 사용하여 감압 여과하고, ice-cold 완충액으로 세척하였다. 여지(GF/C glass fiber)는 상온에서 하룻밤 동안 방치하여 건조시킨 후 톨루엔계 카테일 용액(PPO 4 g, POPOP 0.1 g in 1 L toluene)을 1 바이알당 2 ml씩 가하여 liquid scintillation counter로 방사능(dpm)을 측정하여 혈소판 막에 결합된 ³H-PAF의 양을 계산하였다. 모든 실험은 실온(18~22°C)에서 실시하였고, 모든 측정치는 4 검체의 평균치로 표시하였다.

PAF 수용체에 결합된 specific binding은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Specific binding} = \text{Total binding} - \text{Nonspecific binding}$$

또한 검체에 의한 PAF 수용체결합 저해율은 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{ScSs}{Sc} \times 100 = \frac{(TcNc) - (TsNs)}{TcNc} \times 100$$

* Sc=specific binding of control, Ss=specific binding of sample, Tc=total binding of control, Ts=total binding of sample, Nc=nonspecific binding of control, Ns=nonspecific binding of sample

생약중의 PAF 수용체 결합 저해 활성 측정

1차 검색 검액의 조제—검액의 조제는 각각의 건조 생약 10 g씩을 취하여 증류수 100 ml를 가하고 수욕 상에서 5시간씩 2회 추출하여 자연 농축한 후 일정 농도(생약 1 g/100 ml)가 되도록 희석하여 실험에 사용하였다(130종 생약, Table I참조).

2차 검색 검액의 조제—1차 검색에서 선택된 23종

Table I—Inhibition of receptor binding of PAF to rabbit platelet by the hot water extracts of herbal medicines(130 species) used for the treatments of peripheral circulation disorders

Samples	Part of plants % or animals used ^{a)}	Inhibition ^{b,c)}
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	sb	—
<i>Aconitum carmichaeli</i>	tu	47
<i>Aconitum koreanum</i>	tu	—
<i>Aconitum sp.</i>	tu	—
<i>Akebia quinata</i>	ap	—
<i>Albizia julibrissin</i>	sb	101
<i>Allobophora caliginosa trapezides</i>	bo	48
<i>Aloe sp.</i>	ap	—
<i>Apinia officinarum</i>	rh	46
<i>Amydae maaki</i>	carapax	81
<i>Anthriscus sylvestris</i>	ra	16
<i>Areca catechu</i>	sm	26
<i>Argimonia pilosa</i>	ap	—
<i>Arisaema amurense</i>	sm	—
<i>Aristolochia contorta</i>	fr	—
<i>Artemisia capillaris</i>	ap	—
<i>Artemisia apiacea</i>	ap	—
<i>Artemisia argii</i>	ap	50
<i>Asparagus cochinchinensis</i>	tu	—
<i>Asiasarum sieboldi</i>	ra	25
<i>Aster tataricus</i>	ra	45
<i>Biota orientalis</i>	ap	74
<i>Bombyx mori</i>	corpus	20
<i>Bos taurus domesticus</i>	tauri	29
<i>Boswellia cartreii</i>	rn	—
<i>Brassica juncea</i>	sm	27
<i>Bupleurum falcatum</i>	ra	—
<i>Buthus martensii</i>	bo	58
<i>Carthamus tinctorius</i>	fl	—
<i>Cervus nippon mantchuricus</i>	parvum	32
<i>Cervus nippon mantchuricus</i>	cornu	38
<i>Chaenomeles sinensis</i>	fr	52
<i>Chelidonium majus</i>	ap	—
<i>Chrysanthemum indicum</i>	fl	63
<i>Chrysanthemum sibiricum</i>	ap	35
<i>Cibotium barometz</i>	rh	49
<i>Cirsium japonicum</i>	ra	31
<i>Citrus auratium</i>	fr	—
<i>Citrus unshiu</i>	fr	—
<i>Clematis mandshurica</i>	ra	—
<i>Cnidium officinale</i>	rh	27
<i>Coix lacryma-jobi</i>	sm	—
<i>Commiphora molmol</i>	rn	29

Table I—Continued

Samples	Part of plants % or animals used ^{a)}	Inhibition ^{b,c)}
<i>Coptis japonica</i>	rh	36*
<i>Crataegus pinnatifida</i>	fr	91
<i>Croton tiglium</i>	sm	39
<i>Cryptotympana pustolata</i>	periostracum	41
<i>Cyperus rotundus</i>	rh	15
<i>Daphne genkwa</i>	fl	64
<i>Dianthus chinensis</i>	ap	35
<i>Diospyros kaki</i>	fr(calyx)	16
<i>Dolichos lablab</i>	sm	—
<i>Draba nemorosa</i>	sm	29
<i>Echinops setifer</i>	ra	16
<i>Eclipta prostrata</i>	ap	11
<i>Euphorbia fischeriana</i>	ra	25
<i>Euphorbia kansui</i>	ra	70
<i>Euodia officinalis</i>	fr	—
<i>Forsythia koreana</i>	fr	39
<i>Fritillaria thunbergii</i>	tu	19
<i>Gallus domesticus</i>	corium	—
<i>Gardenia jasminoides</i>	fr	35
<i>Gentiana scabra</i>	ra	86
<i>Gentiana macrophylla</i>	ra	—
<i>Ginkgo biloba</i>	lf	90
<i>Ginkgo biloba</i>	sm	83
<i>Gleditschia officinalis</i>	fr	—
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	ra	22
<i>Inula japonica</i>	fl	—
<i>Laminaria japonica</i>	ap	—
<i>Leonurus sibiricus</i>	ap	55
<i>Ligstrum japonicum</i>	sm	50
<i>Lonicera japonica</i>	fl	85
<i>Magnolia denudata</i>	fl	45
<i>Manis pentadactyla</i>	squama	—
<i>Melia azedarach</i>	fr	45
<i>Mylabiris cichorii</i>	bo	48
<i>Oldenlandia diffusa</i>	ap	—
<i>Paeonia latiflora</i>	rb	—
<i>Paeonia lactiflora</i>	ra	—
<i>Paeonia moutan</i>	rb	—
<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	ra	21*
<i>Perilla frutescens</i>	lf	—
<i>Perilla frutescens</i>	sm	—
<i>Persicaria tinctoria</i>	lf	—
<i>Phellodendron amurens</i>	sb	28
<i>Phyllostachys nigra</i>	rn	90
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	sc	32
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	sb	—

Table I—Continued

Samples	Part of plants or animals used ^{a)}	% Inhibition ^{b,c)}
<i>Pinellia ternata</i>	tu	31
<i>Patrinia scabiosaeifolia</i>	ra	21*
<i>Perilla frutescens</i>	lf	—
<i>Perilla frutescens</i>	sm	—
<i>Persicaria tinctoria</i>	lf	—
<i>Phellodendron amurens</i>	sb	28
<i>Phyllostachys nigra</i>	rn	90
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	sc	32
<i>Phyllostachys bambusoides</i>	sb	—
<i>Pinellia ternata</i>	tu	31
<i>Plantago asiatica</i>	sm	—
<i>Platycodon grandiflorum</i>	ra	92
<i>Polygonum cuspidatum</i>	ra	68
<i>Polistes mandarinus</i>	nidus	—
<i>Polyporus umbellatus</i>	sc	—
<i>Poncirus trifoliata</i>	fr	—
<i>Prunella vulgaris</i>	ap	38
<i>Prunus ansu</i>	sm	26
<i>Prunus nume</i>	fr	98
<i>Prunus persica</i>	sm	—
<i>Pueraria thunbergina</i>	ra	—
<i>Pulsatilla koreana</i>	ra	—
<i>Rehmania glutinosa</i>	ra	—
<i>Rheum sp.</i>	rh	97
<i>Ricinus communis</i>	sm	36
<i>Rubia akane</i>	ap	—
<i>Salvia multiorrhiza</i>	ra	68
<i>Sargassum fulvellum</i>	ap	46
<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	fl	41
<i>Scirpus flaviatilis</i>	tu	—
<i>Scrophularia buergeriana</i>	ra	—
<i>Scutellaria baicalensis</i>	ra	48
<i>Scutellaria barbata</i>	ap	—
<i>Sellaginella tamariscina</i>	ap	11
<i>Sinomenium acutum</i>	rh	43
<i>Smilx china</i>	rh	15
<i>Sophora flavescens</i>	ra	48
<i>Sophora subprosarata</i>	ra	53
<i>Stemona japonica</i>	ra	16*
<i>Strychnos nux-vomica</i>	sm	—
<i>Taraxacum officinarum</i>	ap	17
<i>Terminaliae chebula</i>	fr	—
<i>Torilis japonica</i>	fr	18
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	ra	—
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	sm	10
<i>Trogopterus xanthipes</i>	stool	—

Table I—Continued

Samples	Part of plants or animals used ^{a)}	% Inhibition ^{b,c)}
<i>Tulipa edulis</i>	tu	—
<i>Typha angustifolia</i>	pollen	—
<i>Uncaria sinensis</i>	ap	72
<i>Viscum album var lutescens</i>	ap	—
<i>Vitis vinifera</i>	ra	—
<i>Whitmania pigra</i>	bo	—
<i>Xanthium strumarium</i>	fr	—
<i>Xanthoxylum piperitum</i>	fr	36
<i>Zingiber officinalis</i>	rh	45

a) ap, aerial parts; ba, bark; bo, body(animal); fl, flower; fr, fruit; lf, leaves; ra, radix; rb, root bark; rh, rhi zome; rn, resin; sc, sclerotium; sm, seeds; tu, tuber; sb, stem bark

b) Concentrations: crude drug 1 g/100 ml
*crude drug 1 g/l

c) —: less than 10%

생약에 대해 1차 검색시 조제한 검액 일정량(생약 2g 해당분) 씩을 취한 후 부탄올로 추출하여 부탄올층을 감압하에 완전 농축하여 분말로한 후 증류수에 녹였 으며(생약 1 g/100 ml), 부탄올로 추출한 후의 물층은 잔류한 부탄올을 감압하에서 증류하여 완전히 제거한 후 증류수를 가하여(생약 1 g/100 ml이 되도록 조절한 다음) 1차 검색에서와 같은 방법으로 측정 하였다 (Table II참조).

3차 검색 검액의 조제—2차 검색 결과 선택된 9종 생약을 각각 20 g(건조 생약)씩 취한 후 클로로포름 300 ml씩으로 환류 냉각하에 수욕상에서 3시간씩 3회 추출하여 합한 후 감압하에 농축하여 클로로포름을 제거하고(CHCl₃ fraction), 그 잔사를 풍건하여 클로 로포름을 완전히 제거하고 다시 메탄올 300 ml를 가 하여 같은 방법으로 추출하였다(MeOH subfraction). 활성측정을 위한 클로로포름 분획(CHCl₃ fraction) 검액은 증류수 일정량을 가하여 끓는 물에서 가열하여 녹인 후 식혀 물에 녹는 부분만 취해 반응계에 넣었 으며, 메탄올 분획(MeOH subfraction)은 증류수에 바로 녹여서 사용하였다(Table III참조).

결과 및 고찰

생약중의 PAF 수용체 결합 저해 활성 측정

1차 검색—한방과 민간에서 류마티즘, 혈전증, 고

Table II—Inhibition of receptor binding of PAF by the butanol and water soluble fractions

Samples ^{a)}	% Inhibitor ^{b,c)}		
	H ₂ O extracts(A)	BuOH fractions(B)	H ₂ O fractions(A-B)
<i>Albizzia julibrissin</i>	95	94	8
<i>Biota orientalis</i>	77	89	25
<i>Buthus martensii</i>	58	26	12
<i>Cratagus pinnatifida</i>	91	52	17
<i>Daphne genkwa</i>	60	45	12
<i>Gentiana scabra</i>	86	63	20
<i>Ginkgo biloba</i> (seed)	65	32	4
<i>Ginkgo biloba</i> (leaves)	90	100*	—
<i>Lonicera japonica</i>	84	84	4
<i>Phyllostachys nigra</i>	81	—	—
<i>Platycodon grandiflorum</i>	94	86	7
<i>Polygonum cuspidatum</i>	71	73	39
<i>Rheum sp.</i>	68	60	51
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	52	—	10
<i>Sophora subprosarata</i>	56	48	4
<i>Amygdalopsora maackii</i>	93	—	82
<i>Artemisia argyi</i>	50	—	50
<i>Chaenomeles sinensis</i>	60	—	68
<i>Chrysanthemum indicum</i>	63	—	60
<i>Euphorbia kansui</i>	65	—	60
<i>Leonurus sibiricus</i>	43	—	40
<i>Ligustrum japonicum</i>	50	—	49
<i>Prunus nume</i>	66	—	50

a) Sample preparation: Crude drugs were extracted with water(Sample A, total water extracts) and the total water extracts were fractionated with BuOH to give BuOH fractions(Sample B) and residual water fractions(Sample A-B).

b) Concentrations: crude drug 1 g/100 ml

* BuOH fraction, 100 µg/ml

c) —: less than 10%

혈압, 천식, 알러지성 질환들에 사용되고 있는 생약 130종을 대상으로, 끓는 물로 추출하여 PAF 수용체에 대한 binding assay 결과는 Table I과 같다. Table I에서 보는 바와 같이 전통적으로 PAF와 관련된 질환으로 보이는 증상들에 쓰여온 생약들 중에서, 실제로 PAF 수용체 결합 저해 활성이 높게 관찰 되었으며(130종 중 40% 이상 저해율을 보인 생약 39종, 약 30%), 이는 지금까지 밝혀진 PAF의 생리, 병리학적인 특징과 전통약물의 치료 효과와의 연관성을 잘 나타내주며, 이로써 PAF 길항제를 찾는 데 있어서 한방 및 민간에서의 정보가 매우 유효하고, PAF 수용체 결합 저해 활성이 있는 유효성분 연구는 천연물에서

출발하는 것이 바람직함을 뒷받침해 준다. 또한, 한약은 주로 물을 넣어 달여 먹는 것이 상례이며, *in vitro*에서 실험할 때도, 물에 잘 녹는 검체라야 간편하기 때문에, 검색 단계에서는 뜨거운 물로 추출해서 실험하는 것이 합리적이라 생각된다. 또한, 본 검색에서는 식물 뿐 아니라 동물 생약도 포함시켰으며, 1차 검색(생약 1 g/100 ml 농도)에서 ³H-PAF 수용체 결합 저해율이 50% 이상인 생약 23종을 2차 검색 대상으로 선택하였다(은행과 은행잎은 positive control).

2차 검색—1차 검색에서 선택한 23종에 대해 1차 검색시 사용한 검액 일정량을 부탄올로 추출하여 만든 부탄올 분획과 나머지 수층에 대하여 실험한 결과는

Table III—Inhibition of receptor binding of PAF by the chloroform fraction and methanol sub fraction of some plants

Samples ^{a)}	% Inhibition ^{b,c)}	
	CHCl ₃ fractions	MeOH sub fractions
<i>Albizia julibrissin</i>	15	40
<i>Biota orientalis</i>	85	47
<i>Cratagus pinnatifida</i>	5	35
<i>Daphne genkwa</i>	62	43
<i>Gentiana scabra</i>	—	60
<i>Ginkgo biloba</i>	93	40
<i>Platycodon grandiflorum</i>	—	103
<i>Polygonum cuspidatum</i>	45	31
<i>Sophora subprosarata</i>	50	55

a) Crude drugs were extracted with CHCl₃(CHCl₃ fraction), then the residues were extracted with MeOH(MeOH subfraction).

b) Concentrations: 1 mg/2 ml

c) —: less than 10%

Table II와 같다. 여기서 생약 추출물의 positive control로 은행잎의 부탄을 분획과 병행하여 실험하였다. 이는 은행잎이 천연물에서 유래한 PAF 길항제로 널리 알려져 있는 ginkgolide의 원 식물이기 때문이다.¹⁴⁾

3차 검색—2차 검색에서 유기용매 분획에 PAF 수용체결합 저해활성이 있을 것으로 예상되는 9종 생약에 대하여 새로이 건조생약을 클로로포름으로 가열 추출하여 얻은 클로로포름 분획(CHCl₃ fraction)과 이어서 그 잔사를 메탄올로 가열 추출하여 얻은 메탄올 분획(MeOH subfraction)에 대하여 실험한 결과는 Table III과 같다.

2차 검색 결과 부탄을 분획에서 ³H-PAF 수용체 결합 저해활성이 강하게 나오고, 부탄을 분획을 제거한 물 분획(H₂O extracts, sample A-B)에서 저해활성이 나타나지 않는 생약 9종에 대하여 3차 검색 대상으로 선택하였다. 이는 활성성분이 유기용매 가용성 물질이어서 1차 검색시 뜨거운 물에 녹아나오고, 본래에는 유기용매에 녹는 성분을 본 연구의 대상으로 하기 위함이다. Table III에서, 은행잎과 은행 모두 클로로포름 분획(CHCl₃ fraction)과 메탄올 분획(MeOH subfraction)에서 활성이 있는데, 이는 모두 ginkgolide에 의한 것으로 보이며(positive control), PAF 수용체 결합 저해 활성이 메탄올 분획(MeOH subfraction)으로 이행되는 생약(길경, 산사, 용담초,

합환피)은 본 연구대상에서 제외하였다. 왜냐하면, 클로로포름으로 추출한 후의 메탄올 분획(MeOH subfraction)에 이행되는 물질은 대부분 사포닌일 가능성이 농후하며, 사포닌 성분은, 본 실험에서 사용한 혈소판을 용해시켜, 위양성(偽陽性, false positive)에 의한 ³H-PAF 수용체 결합 저해율을 높일 위험이 있기 때문이다. 실제로 합환피와 길경의 검액을 혈소판 현탁액에 가하면, 즉시 혈소판 현탁액이 투명해 지는 것으로 보아, 아마도 이들 생약중에 다량 함유되어 있는 사포닌이 혈소판 막을 용해시킴이 분명하다고 생각된다.

결 론

총 130가지 생약의 물 추출물에 대하여 PAF 수용체 결합 저해 활성에 대하여 검색한 결과 유기용매 가용 분획에서 활성이 나타나는 생약은 *Biota orientalis*, *Daphne genkwa*, *Polygonum cuspidatum*, *Sophora subprosarata*를 들 수 있으며 이들 생약들에 대하여 그 유효 성분연구를 할 필요가 있다고 생각된다.

감사의 말씀

본 실험에 사용한 모든 생약을 검정해 주신 서울대학교 천연물과학연구소 지형준 교수님께 감사드립니다. 또한, 본 연구는 포항공대 생리분자 과학연구센터(CBM 92-17)와 일약약품의 연구비에 의하여 진행되었기에 이에 감사를 드립니다.

문 헌

- 1) Benveniste, J., Henson, P. M. and Cochrane, C. G.: Leucocyte dependent histamine release from rabbit platelets: The role of IgE, basophils and a platelet activating factor. *J. Exp. Med.* **136**, 1356 (1972).
- 2) Snyder, F.: Chemical and biochemical aspects of platelet activating factor: a novel class of acetylated ether-linked choline phospholipids, *Med. Res. Rev.* **5**, 107 (1985).
- 3) Hwang, S. B., Lam, M. H. and Shen, T. Y.: Specific binding sites for platelet activating factor in human lung tissues. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **128**, 972 (1985).

- 4) Hayashi, H., Kudo, I., Inoue, K., Onozaki, K., Tsushima, S., Nomura, H., and Nojima, S. : Activation of guinea pig peritoneal macrophages by platelet activating factor(PAF) and its agonists. *J. Biochem.*, **97**, 1737 (1985).
- 5) Braquet, P., Tougui, L., Shen, T. Y. and Vargaftig B. B.: Perspectives in platelet-activating factor Research. *Pharmacol. Rev.* **39**, 97 (1987).
- 6) Vargaftig, B. B. and Braquet, P.: PAF-acether today: relevance for acute experimental anaphylaxis. *Br. Med. Bull.* **43**, 312 (1987).
- 7) Ito, O., Camussi, G., Tetta, C., Milgrom, F. and Andres, G.: Hyperacute renal allograft rejection in the rabbit: the role of platelet-activating factor and of cationic proteins derived from polymorphonuclear leucocytes and from platelets. *Lab. Invest.* **51**, 148 (1984).
- 8) Barnes, J., Hellegouarch, A., Le Hegarat, M., Vioissat, I., Auguet, M., Chabrier, P. E., Clostre, F. and Braquet P.: The effects of PAF-acether on the cardiovascular system and their inhibition by a new highly specific PAF-acether receptor antagonist BN 52021. *Pharmacol. Res. Commun.* **18**, 717 (1986).
- 9) Dobber, T. W., Wu, M. S., Robbins, J. C., Choy, B. M., Chang, M. N. and Shen, T. Y.: Platelet activating factor (PAF) involvement in endotoxin-induced hypotension in rats. Studies with PAF-receptor antagonist, kadsurenone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **127**, 799 (1985).
- 10) Hsueh, W., Gonzalez Crussi, F. and Arrovave, J. L.: Platelet activating factor-induced ischemic bowel necrosis. *Am. J. Pathol.* **122**, 231 (1986).
- 11) Maller, A. T. and Cunningham, F. M.: Structural identification of platelet activating factor in psoriatic scale. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **126**, 192 (1985).
- 12) Terashita Z., Tsushima S., Yoshioka Y., Nomura H., Inada Y. and Nishikawa K.: CV3988-a specific antagonist of platelet activating factor(PAF). *Life Sci.*, **32**, 1975 (1983).
- 13) Bernat, A., Herbert, J. M., Salel, V., Lespy, L. and Maffrand, J. P.: Protective effect of SR-27417, a novel PAF antagonist, on PAF- or endotoxin-induced hypotention in the rat and the guinea-pig. *J. Lipid Med.*, **51**, 41 (1992).
- 14) Braquet, P., Spinnewyn, B., Braquet, M., Bourgain, R. H., Taylor, J. E., Etienne, A. and Drieu, K.: BN 52021 and related compounds; a new series of highly specific PAF-acether receptor antagonists isolated from *Ginkgo biloba*. *Blood Vessel* **16**, 559 (1985).
- 15) Shen, T. Y., Hwang, S. B., Chang, M. N., Doebber, T. W., Lam, M. H., Wu, M. S., Wang, X., Han, G. Q. and Li, R. Z.: Characterization of a platelet activating factor receptor antagonist isolated from haifenteng(*Piper futokadsura*): specific inhibition on *in vitro* and *in vivo* platelet-activating factor-induced effects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **82**, 672 (1985).
- 16) 육창수: 한국 약품식물 자원도감, 진명출판사, 서울, p.19 (1988).
- 17) Valone, F. H., Coles, E., Reinhold, V. R. and Goetzl, E. J.: Specific binding of phospholipid platelet-activating factor by human platelets. *J. Immunol.* **129**, 1637 (1982).
- 18) Klopogge E. and Akkerman N.: Binding kinetics of PAF-acether(1-O-alkyl -2-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine) to intact human platelets. *Biochem. J.*, **223**, 901 (1984)