

## 생약 물 추출물의 혈소판 활성화 인자 결합 억제효과 검색: 민간약정보에 근거하여 선택한 35종 생약

한병훈<sup>†</sup> · 양현옥 · 강영화 · 한용남  
서울 대학교 천연물과학연구소

(Received September 27, 1994)

### Screening of the Inhibitory Effect of Herbal Medicines on the Platelet Activating Factor(PAF) Binding: 35 Selected Herbal Medicines Based on folk Medicinal Informations

Byung Hoon Han, Hyun Ok Yang, Young Hwa Kang and Yong Nam Han  
Natural Products Research Institute Seoul National University, 28 Yeunkeun-dong,  
Jongno-ku, Seoul 110-460

**Abstract** — As a continuation of the previous studies, a third group of thirty five hot aqueous extracts from natural products were screened for platelet activating factor(PAF) receptor binding antagonistic activities using rabbit platelet. The results demonstrate that *Arctium lappa* is potential source of PAF antagonist.

**Keywords** □ Platelet Activating Factor(PAF) antagonist, *Arctium lappa*

혈소판 활성화인자(platelet activating factor, PAF)는 1972년에 IgE로 감작된 토끼의 호염기구의 배양액에서 처음으로 발견된 지질성 biomediator<sup>1)</sup>로서 생체내에서 강력하고 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 왔다. 즉 혈소판을 활성화 시키고, 각종 세포들(혈소판, 백혈구 등)의 응집반응 및 이와 관련된 여러가지 세포내 생화학적 반응을 개시한다.<sup>2)</sup> 그리하여 염증,<sup>3)</sup> 천식,<sup>4)</sup> 장기이식에 대한 거부반응,<sup>5)</sup> 내독소에 의한 쇼크,<sup>6)</sup> 위궤양,<sup>7)</sup> 알러지<sup>8)</sup>와 같은 병리적 반응과 깊이 관계하는 것으로 알려져 있다. PAF 길항제는 혈소판활성화인자 수용체와 결합하여 위와 같은 여러가지 병리적인 반응을 예방 및 치료할 수 있으리라는 기대하에 많이 연구되고 있는 물질이다. 실제로 지금까지 알려진 PAF 특이적인 길항제는 PAF 구조 관련 길항제인 CV 3988,<sup>9)</sup> 6209<sup>10)</sup> 등으로 주로 합성품이며 이미 많은 연구가 진행되어 있다. 천연물에서 유래한 길항제는 ginkgolide,<sup>11)</sup> kadsurenone<sup>12)</sup> 등 다수 보고된 바 있다. 특히 천연물에서 유래한 길

항제들은 여러 계열의 물질들로 그 구조에서 매우 광범위한 다양성이 예측된다. 이에 저자 등은 민간과 한방에서 각종 말초 순환장애(류마티즘, 천식, 혈전증, 알러지성 질환 등)에 사용하고 있는 국내 생약<sup>13)</sup> 130 가지 생약을 대상으로 PAF 결합 억제효과를 검색하여 보고한 바 있고,<sup>14)</sup> 이어서 무작위로 선택한 62가지 생약에 대한 검색을 완료하였다.<sup>15)</sup> 또한 그 생약들 중 추출액에서 그 유효성분을 추적하여 순수분리 하였고(IC<sub>50</sub>, 2.5×10<sup>-7</sup>M), 그 화학구조를 pinosolide로 결정하였으며,<sup>16)</sup> 현재 그 약리활성과 구조-활성 상관관계를 수행 중이다. 이에 그 계속적인 연구로 본 연구에서는 민간과 한방에서 사용하고 있는 35가지 생약에 대하여 추가로 검색하였기에 보고 하고자 한다.

#### 실험 방법

##### 시약 및 기기

[<sup>3</sup>H]PAF는 Amersham Co. 에서, bovine serum albumin(Fraction V, 이하 BSA라 함)과 PAF(cold form, C<sub>16</sub>-PAF)는 Boehringer Mannheim Co.에서

<sup>†</sup>본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로

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.), glass fiber filter(Skatron Co.), liquid scintillation counter(Hewlett Packard Co.) 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 생약을 원료로 하였다.

**검색 검액의 조제**

**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.

**2차 검색 검액의 조제**— 1차 검색에서 선택된 2종 생약에 대해 1차 검색시 조제한 검액 일정량(생약 2 g 해당분) 씩을 취한 후 부탄올로 추출하여 부탄올층을 감압하에 완전 농축하여 분말로 한 후 증류수에 녹였으며(생약 1 g/100 ml), 부탄올로 추출한 후의 물 층은 잔류한 부탄올을 감압하에서 증류하여 완전히 제거한 후 증류수를 가하여 생약 1 g/100 ml이 되도록 조절 한 다음 실험에 사용하였다.

**PAF 결합 억제효과 측정**

제 1보<sup>14)</sup>에서와 같은 방법으로 혈소판 현탁액과 [<sup>3</sup>H]PAF 용액을 조제 하였고 Valone의 방법<sup>17)</sup>을 일부 변형하여 [<sup>3</sup>H]PAF 결합 실험을 시행하였다.<sup>18)</sup>

**결과 및 고찰**

**생약의 [<sup>3</sup>H]PAF 결합 억제효과**

**1차 검색**— 한방과 민간에서 사용되고 있는 생약 35종을 대상으로, 끓는 물로 추출하여 PAF 결합억제 시험을 한 결과는 Table I과 같다. 1차 검색(생약 1 g/100 ml 농도)에서 [<sup>3</sup>H]PAF 수용체 결합 저해율이 50% 이상인 생약 2종을 2차, 3차 검색 대상생약으로 선택하였다.

**Table I**— Inhibition of receptor binding of [<sup>3</sup>H]PAF (0.6 nM) to rabbit platelet by the hot water extracts of randomly selected Korean traditional medicines(35 species)

Sample	Part of plants used <sup>a)</sup>	% Inhibition <sup>b),c)</sup>
<i>Agastache rugosa</i>	ap	—
<i>Alpinia oxyphylla</i>	fr	—
<i>Anemarrhena aspodeloides</i>	rh	—
<i>Anthum graveolens</i>	fr	—
<i>Arctium lappa</i>	sm	66
<i>Areca catechu</i>	fct	31
<i>Astragalus membranaceus</i>	rh	—
<i>Atractylodes macrophala</i>	rh	—
<i>Atractylodes japonica</i>	rh alba	—
<i>Benincasa hispida</i>	sm	—
<i>Betula platyphylla</i>	sb	—
<i>Biota orientalis</i>	sm	25
<i>Caesalpinia sappan</i>	lignum	—
<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	rh	12
<i>Cinnamomum cassia</i>	ct	—
<i>Cinnamomum cassia</i>	branches	—
<i>Cistanche salsa</i>	ap	—
<i>Cornus officinalis</i>	fr	—
<i>Cuscuta japonica</i>	sm	—
<i>Dipsacus asperoides</i>	ra	51
<i>Equisetum hyemale</i>	ap	—
<i>Euphoria longana</i>	fct	—
<i>Lilium lancifolium</i>	rh	—
<i>Lindera strychnifolia</i>	ra	—
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	ra	27
<i>Lycium chinensis</i>	rb	—
<i>Lycium chinensis</i>	fr	—
<i>Magnolia obovata</i>	ct	—
<i>Morus bombycis</i>	rb	—
<i>Panax ginseng</i>	ra	26
<i>Picrorrhiza kurroa</i>	ra	—
<i>Polygonatum falcatum</i>	ra	—
<i>Poria cocos</i>	sc	—
<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	ap	—
<i>Zizyphus jujuba</i>	sm	—

a) ap, aerial parts; ct, cortex; fct, fruit cortex; fr, fruit; ra, radix; rb, root bark; rh, rhizome; sc, sclerotium; sm, seeds; sb, stem bark

b) Concentrations: crude drug 1 g/100 ml

c) —: less than 10%

**2차 검색**— 1차 검색에서 선택한 2종 생약에 대하여 1차 검색시 사용한 검액 일정량을 부탄올로 추출하여

**Table II**—Inhibition of receptor binding of [ $^3\text{H}$ ]PAF (0.6 nM) to rabbit platelet by the butanol and water soluble fractions

Samples <sup>a)</sup>	% Inhibition <sup>b), c)</sup>		
	H <sub>2</sub> O extracts(A)	BuOH fractions(B)	H <sub>2</sub> O fractions(A-B)
<i>Arctium lappa</i>	60	45	5
<i>Dipsacus asperoides</i>	54	81	—

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 the residual water fractions (Sample A-B).

b) Concentrations: crude drug 1 g/100 ml

c) —: less than 10%

**Table III**—Inhibition of receptor binding of PAF by the CHCl<sub>3</sub> fr. and MeOH sub fr. of some plants

Samples <sup>a)</sup>	% Inhibition <sup>b)</sup>	
	CHCl <sub>3</sub> fractions	MeOH sub fractions
<i>Arctium lappa</i>	61	74
<i>Dipsacus asperoides</i>	17	41

a) Crude drugs were extracted with CHCl<sub>3</sub> (CHCl<sub>3</sub> fraction), then the residues were extracted with MeOH (MeOH sub fraction).

b) Concentrations: 1 mg/2 ml

만든 부탄올 분획과 나머지 수층에 대하여 실험한 결과는 Table II와 같으며 2종 모두 유기용매 분획에서 혈소판 활성화인자 결합 억제효과를 나타내었다.

**3차 검색**—1차 검색에서 선택한 2종에 대해 새로이 클로로포름과 메탄올 분획을 조제하여 실험한 결과는 Table III과 같다. 이들 중 *Dipsacus asperoides*의 경우 2차 검색 결과 부탄올 분획에서 [ $^3\text{H}$ ]PAF 수용체 결합 저해작용이 조금 나오고, 부탄올 분획을 제거한 물 분획에서 활성이 더 강하게 나왔으며, 3차 검색 결과에서 또한 클로로포름 분획(CHCl<sub>3</sub> fraction)에서 보다는 메탄올 분획(MeOH sub fraction)에서 활성이 더 강하게 관찰되었으므로 본 연구 대상에서 제외하는 것이 바람직해 보인다. 그 이유는 클로로포름으로 추출한 후의 메탄올 분획(MeOH sub fraction)에 이행되는 물질은 대부분 사포닌일 가능성이 농후하며, 사

포닌성분은 본 실험에서 사용한 혈소판을 용해시켜, 위양성(偽陽性, false positive)을 나타냈을 가능성이 있기 때문이다.

## 결론

총 35가지 생약의 물 추출물에 대하여 PAF 결합 억제효과에 대하여 검색한 결과 유기용매 가용분획에서 억제효과가 나타나는 생약의 기원식물은 *Arctium lappa*와 *Dipsacus asperoides*를 들 수 있으며 이 생약들 중 *Arctium lappa*에 대하여 그 유효성분 연구가 필요하리라 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 광동제약의 연구비에 의하여 진행되었기에 이에 감사를 드립니다.

## 문헌

- 1) Benveniste, J., Henson, P. M. and Cochrane., C. G.: Leucocyte dependent histamine release from rabbit platelets: The role of Ig E, 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) Braquet, P., Tougui, L., Shen, T. Y. and Vargaftig B. B.: Perspectives in Platelet-activating Factor Research. *Pharmacol. Rev.* **39**, 97 (1987).
- 4) Vargaftig, B. B. and Braquet, P.: PAF-acether today: relevance for acute experimental anaphylaxis. *Br. Med. Bull.* **43**, 312 (1987).
- 5) 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).

- 6) 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).
- 7) Hsueh, W., Gonzalez Crussi, F. and Arrovave, J. L.: Platelet activating factor-induced ischemic bowel necrosis. *Am. J. Pathol.* **122**, 231 (1986).
- 8) Maller, A. T. and Cunningham, F. M.: Structural identification of platelet activating factor in psoriatic scale. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **126**, 192 (1985).
- 9) 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).
- 10) Terashita, Z., Imura, Y., Takatani, M., Tsushima, S. and Nishikawa, K.: CV6209, a highly potent antagonist of platelet activating factor *in vitro* and *in vivo*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **242**, 263 (1987).
- 11) 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).
- 12) 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).
- 13) 육창수: 한국 약품식물 자원도감, 진명출판사, 서울, p. 19 (1988).
- 14) 한병훈, 양현옥, 김용철, 한용남: 생약의 물추출물에 대한 혈소판 활성화인자 수용체결합 저해활성 검색, 약학회지, **38**, 462 (1994).
- 15) 한병훈, 양현옥, 이승룡, 조순현, 고현정, 한용남: 생약 물추출물에 대한 혈소판 활성화인자 결합 억제효과 검색-제2보, 약학회지 in press (1994).
- 16) 양현옥, 서대연, 한병훈: Isolation and Characterization of Platelet-Activating Factor Receptor Binding Antagonists from *Biota orientalis*, *Planta Medica*, in press (1994).
- 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) Kløppogge, 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).