

## 침향의 항알레르기 효과

김윤철 · 정세준 · 김형민\*

원광대학교 약학대학

(Received January 16, 1997)

### Antiallergic Effect of Aquilariae Lignum

Youn-Chul Kim, Sei-Joon Jeong and Hyung-Min Kim\*

College of Pharmacy, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

**Abstract**—Effects of the aqueous extract of Aquilariae Lignum (Thymelaeaceae) on the allergic reactions were investigated. Oral administration of this extract (50, 250, and 500 mg/kg) exhibited a dose-dependent inhibition on passive cutaneous anaphylactic reactions in rats. Administrations of this extract (500 mg/kg, i.p.) at 60 min before and 5, 10 min after the compound 48/80 treatment (8 mg/kg, i.p.) decreased the mortality rates to 0, 0, and 14.2%, respectively. The aqueous extract of Aquilariae Lignum (0.05~1.6 mg/ml) showed a dose-related inhibition on histamine release from rat peritoneal mast cells. The morphological examination also clearly showed that the aqueous extract of Aquilariae Lignum prevented the degranulation of mast cells in rats.

**Keywords** □ Aquilariae Lignum, Thymelaeaceae, Allergic reactions, Histamine, Mast cells.

침향 (Aquilariae Lignum)은 팔꽃나무과 (Thymelaeaceae)에 속하는 침향나무 (*Aquilaria agallocha* Roxb.) 변재의 재질 중에 흑색의 수지가 침착된 부분을 채집한 것<sup>1)</sup>으로서 한국, 중국, 일본 등지에서 진해, 건위, 정장, 진정작용이 있으며, 한방에서 피부소양, 복통, 천식의 치료에 이용되고 있는 생약이다.<sup>1-3)</sup> 침향의 성분에 대해서는 chromone유도체<sup>4)</sup>, sesquiterpenes<sup>5)</sup>, 및 coumarinolignan<sup>6)</sup>등이 알려져 있으며, 이에 관한 약리학적 연구로는 Okugawa 등<sup>7)</sup>이 벤젠 추출물의 중추신경계에 대한 억제작용을 보고하였다. 알레르기는 일반적으로 4가지 형태로 분류되어지고 있으며<sup>8)</sup> 그 중 제1형 알레르기가 임상에서 주요 부분을 차지하고 있다. Ishizaka 등<sup>9)</sup>은 비만세포로부터의 히스타민의 유리가 제1형 알레르기의 병리학적 진행과정에 있어서의 필수적인 단계임을 밝혔으며, Saito 등<sup>10)</sup>은 수동 피부 아나필락시스 (passive cutaneous anaphy-

laxis, PCA) 반응을 제1형 알레르기의 전형적인 시험 모델로 확립시켰다. 한편, compound 48/80은 *N*-methyl-*p*-methoxyphenylethylamine과 formaldehyde의 축합에 의해 합성된 고분자물질의 복합체로서 비만세포 탈과립물질로 알려져 있다.<sup>11)</sup>

저자들은 침향이 피부소양 및 천식의 치료에 이용되고 있는 점에 주목하여, 그 약리작용의 특성을 규명하기 위해 대표적인 즉시형 알레르기 반응 시험방법을 이용하여 억제작용을 검토하였다. 즉 침향의 물 추출물을 검체로 하여 48시간 동종 수동 피부 아나필락시스, compound 48/80 유발 아나필락시스 및 흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민의 방출에 미치는 영향을 분석하여 보고하는 바이다.

### 실험방법

#### 시약 및 기기

침향은 익산시 한약전재상에서 구입하여 물 추출물을 실험에 사용하였다. 즉 침향을 세절후, 증류수로

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 0653-50-6805 (팩스) 0653-843-3421

100°C, 3시간 3회 추출하여, 감압하에서 농축후 동결건조하여 얻은 물 추출물을 피검체로 하였다. Compound 48/80, metrizamide,  $\alpha$ -minimum essential medium, anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE, DNP-human serum albumin (HSA), Evans-blue 등은 Sigma 회사 제품을 사용하였고 기타 모든 시약은 특급시약을 사용하였다. 기기로는 Spectrofluorometer (Kontron, Germany)를 사용하였다.

### 실험동물

화학연구소 (KRICT)에서 구입한 Wistar계 흰쥐 수컷을 원광대학교 약학대학 사육실에서 1주일 이상 순화시켜 체중 200~250 g 범위의 것을 사용하였다. 동물실내의 명암은 12시간으로 자동 조절시켰으며 물과 사료(신촌사료사)를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 48시간 동종 수동 피부 아나필락시스 (PCA) 반응

Kawabata등<sup>12)</sup>의 방법에 따라서 실험하였다. 즉 Anti-DNP-IgE 항체 100  $\mu$ g을 함유한 생리식염수 용액 50  $\mu$ l를 Wistar계 수컷 흰쥐의 등의 털을 제거한 후 4곳의 부위에 피하주사하여 감작시켰다. 감작시킨 다음 48시간이 경과 한 후 DNP-HSA 1 mg과 Evans-blue 16 mg을 포함한 생리식염수 500  $\mu$ l를 꼬리정맥에 투여하였다. 반응 30분후 치사시켜 Evans-blue로 염색된 피부부위를 절취하고 누출된 색소량을 Katayama등<sup>13)</sup>의 방법으로 정량하였다. 즉 염색된 피부부위를 시험관에 넣고 1 N KOH 1 ml를 가하고 37°C에서 하룻동안 방치하여 피부조직을 용해시키고 0.6 N 인산과 아세톤 (5:13) 혼합용액 9 ml를 가한 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 추출된 색소를 620 nm에서 비색 정량하였다.

### Compound 48/80 유발 전신성 아나필락시스

Amir등<sup>14)</sup>의 방법에 따라서 실험하였다. 즉 침향 물 추출물을 생리식염수에 용해한 다음 30~2000 mg/kg의 용량을 Wistar계 수컷 흰쥐의 복강내에 주사하였다. 투여 1시간 후 비만세포 탈과립물질인 compound 48/80 (8 mg/kg, 체중)을 흰쥐의 복강내에 투여하여 아나필락시스를 유발하고 60분 동안의 치사율을 계산하였다. 치사율의 관찰이 끝난 직후 흰쥐의 심장에서 혈액을 취하여 에펜돌프 튜브에 넣어 4°C에서 3시간 방치한 다음 400×g에서 20분 동안 원심분리하고 혈청을 취하여

Shore등<sup>15)</sup>의 방법에 따라 히스타민의 함량을 측정하였다. 시간 의존 실험으로 침향 물 추출물을 compound 48/80 투여 1시간 전, 5분과 10분 후에 각각 복강내에 주사하고 치사율과 히스타민 함량을 측정하였다.

### 흰쥐복강 비만세포의 분리 및 histamine 유리시험

흰쥐의 복강비만세포는 Kanemoto등<sup>16)</sup>의 방법에 준하여 분리하였다. 간단히 요약하면 다음과 같다. 흰쥐를 에테르로 마취시킨후 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B 용액 30 ml를 복강내 주입하고 60~90초간 복벽을 가볍게 마사지 한 후 복벽중앙의 가장자리를 절개한 후 pasteur pipette으로 복강내액을 취하였다. 취한 복강내액을 1,000 rpm에서 5분간 3회 반복 원심분리하고 상층부유액을 제거한 다음 Tyrode buffer B 용액 1 ml에 재부유시켰다. 여기에 22.5% w/v metrizamide 2 ml를 가하고 1,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 흰쥐 복강세포들 중에서 비만세포를 분리 정제하였다. 침전된 흰쥐 복강비만세포를 Tyrode buffer A 용액에 부유시켜  $2 \times 10^5$  cells/well로 조정하고 CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 10분간 미리 배양한 다음 침향 물 추출물의 PBS 용액을 가하여 최종농도를 각각 50, 100, 200, 400 및 800  $\mu$ g/ml로하고 10분 동안 배양한 다음 compound 48/80 (5  $\mu$ g/ml)을 처리하고 다시 10분간 배양한 후 원심분리하여 상층액중의 히스타민양을 Shore등<sup>15)</sup>의 방법에 의하여 정량하였다.

### 결과 및 고찰

Wistar계 흰쥐에 있어서 anti-DNP-IgE 항체에 의한 PCA 반응에 미치는 침향 물 추출물의 영향을 분석한 결과, 침향 물 추출물은 PCA 반응에 의한 흰쥐의 Evans-blue로 염색된 부위의 색소량을 용량의존적으로 억제하여 250 및 500 mg/kg 투여군에서 각각 91.7, 96.6%의 억제율을 나타냈다 (Table I). PCA 반응은 IgE 관련 작용기전에 의해 비만세포 또는 호염기구로부터 histamine, leukotrienes와 같은 화학 전달물질에 의해 유발되는 것으로 알려져 있으며 이 화학 전달물질의 작용으로 혈관벽의 투과성이 증가됨에 따라 감각되어진 흰쥐의 등 피부에 청색 색소가 누출된다. 침향 물 추출물의 PCA 반응 억제기전은 IgE 수용체 antagonism, IgE 수용체 complex의 신호전이 억제, 막안정화, chemical mediator들에 대한 antagonism

등 다양한 측면을 고려한 계속된 연구에서 규명될 수 있을 것으로 사료된다.

침향 물 추출물 (500 mg/kg, 체중)을 compound 48/80 투여 1시간 전과 5분 후에 복강내에 투여한 결과 모두 0%의 치사율을 나타내었으며 10분 후에 투여한

**Table I**—Effects of Aquilariae Lignum extract on passive cutaneous anaphylaxis reactions

Aquilariae Lignum addition (mg/kg, body weight)	Amount of dye ( $\mu$ g/site)	Inhibition (%)
None (Saline)	50.78 $\pm$ 1.42	-
50.0	29.76 $\pm$ 4.25	21.7
250.0	4.24 $\pm$ 0.44**	91.7
500.0	1.74 $\pm$ 0.37**	96.6

Drug was administered orally 1 hr prior to challenge with antigen. Each amount of dye represents the mean $\pm$ S.E. of 7 experiments. \*\*p<0.01; significantly different from the control.

**Table II**—Inhibitory effects of Aquilariae Lignum on compound 48/80-induced anaphylactic shock

Aquilariae Lignum addition(mg/kg, body weight)	Com-pound 48/80 (8 mg/kg)	Mortality (%)		
		1 hr before	5 min after	10 min after
None (Saline)	+	100	100	100
500	+	0	0	14.2
500	-	0	0	0

Compound 48/80 solution was intraperitoneally given to the group (n=7) of rats. Mortality (%) within 1 hr following by injection of compound 48/80 was represented as No. of dead rats $\times$ 100/No. of total experimental rats.

**Table III**—Effects of Aquilariae Lignum on compound 48/80-induced anaphylaxis

Aquilariae Lignum addition (mg/kg, body weight)	Compound 48/80 (8 mg/kg)	Mortality (%)
None (Saline)	+	100
30	+	100
60	+	57.1
120	+	42.8
250	+	28.6**
500	+	0**
1000	+	14.2**
2000	+	57.1
3000	-	0

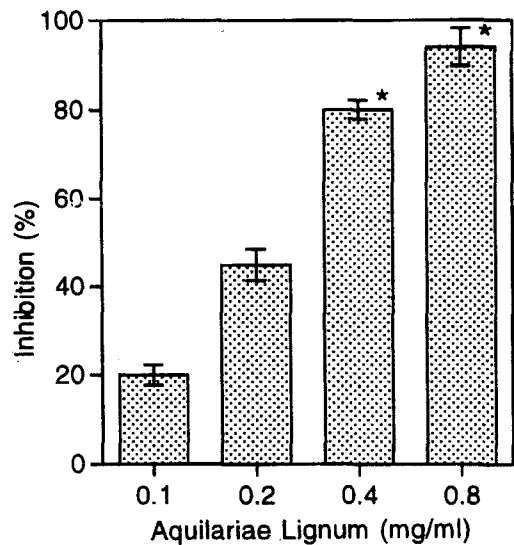
Drug was administered intraperitoneally 1 hr prior to compound 48/80 injection (n=7/group). Mortality (%) within 1 hr following by injection of compound 48/80 was represented as No. of dead rats $\times$ 100/No. of total experimental rats. \*\*p<0.01; significantly different from the control.

군에서는 14.2%의 치사율을 나타내었다 (Table II). 따라서 탈과립 유도물질에 노출된 후 5분 이내에 침향 물 추출물의 투여에 의해 전신성 아나필락시스의 억제가 예상되고, compound 48/80과 침향 물 추출물과의

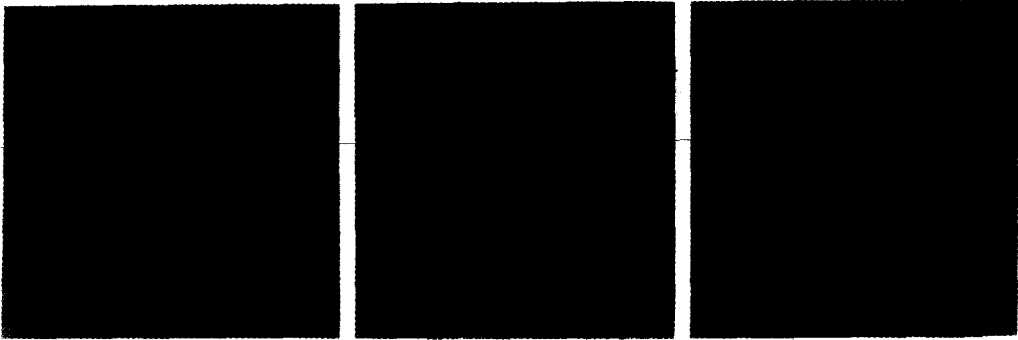
**Table IV**—Effects of Aquilariae Lignum on serum histamine release in compound 48/80-induced anaphylaxis

Aquilariae Lignum addition (mg/kg, body weight)	Compound 48/80 (8 mg/kg)	Inhibition (%) of histamine release
None (Saline)	+	0
30	+	12.69 $\pm$ 1.16
60	+	29.69 $\pm$ 4.12
120	+	49.42 $\pm$ 5.96
250	+	55.38 $\pm$ 3.08
500	+	78.08 $\pm$ 2.70*
1000	+	75.00 $\pm$ 2.31*
2000	+	31.15 $\pm$ 3.24

Groups of rats were intraperitoneally pretreated with 200  $\mu$ l saline or drug. Each drug was given with various doses at 1 hr before (n=5/group) compound 48/80 injection. Compound 48/80 solution was intraperitoneally given to the group of rats. \*p<0.05; significantly different from the control.



**Fig. 1**—Inhibitory effects of Aquilariae Lignum on compound 48/80-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. Rat peritoneal mast cells ( $2 \times 10^5$  cells/ml) were pretreated with 10  $\mu$ l of saline or the aqueous extract of Aquilariae Lignum for 10 min. Each points represented the mean of seven experiments, and vertical bars indicate S.E. \*p<0.05; significantly different from the control.



**Fig. 2** -- Visualization of morphological changes in isolated rat peritoneal mast cells. Fresh isolated rat peritoneal mast cells (A), in the presence of compound 48/80 (B), in the presence of the aqueous extract of *Aquilariae Lignum* plus compound 48/80 (C). Magnifications  $\times 700$ .

상호작용 가능성은 다른 탈과립 물질을 이용한 대조실험 등으로 밝힐 필요가 있다. 침향 물 추출물을 30~2000 mg/kg의 용량으로 compound 48/80 투여 1시간 전에 복강내 투여 후 치사율을 관찰한 바 2중상의 결과를 얻었다 (Table III). Amellal등<sup>17)</sup>은 kaempferol이 compound 48/80에 의한 히스타민의 유리를 2중상으로 억제함을 보고하였다. 침향 물 추출물 중의 항아나필락시스 활성물질은 kaempferol의 활성양상과 유사한 것으로 생각되어진다. 이상의 실험결과는 침향 물 추출물의 경구 및 복강내 투여에 의해 아나필락시스 반응이 억제되는 것을 의미한다.

Compound 48/80을 투여하기 1시간 전에 침향 물 추출물 (30~2000 mg/kg, 체중)을 복강내에 투여하고 치사율을 관찰한 다음 흰쥐의 심장에서 채혈하여 혈청을 분리한 다음 히스타민양을 측정하였다 (Table IV). 혈청중의 히스타민 유리 억제율은 compound 48/80에 의해 유도된 아나필락시스 반응에 대한 영향과 유사한 양상으로 500 mg/kg의 용량에서 극대의 억제 효과를 나타내었다.

흰쥐 복강비만세포를 이용하여 compound 48/80 자극에 의한 히스타민 유리에 대한 침향 물 추출물의 영향을 검토하였다. 침향 물 추출물은 용량의존적으로 히스타민의 유리를 억제하는 작용이 인정되었으며 특히 0.4 및 0.8 mg/ml의 농도에서 각각 79.8, 94.1%의 억제율을 나타내었다 (Fig. 1). 또한, 반응 후 위상차 현미경을 이용하여 흰쥐복강 비만세포의 탈과립 정도를 관찰한 바 compound 48/80만을 처리한 경우에는 비만세포가 팽창되었으나 침향 물 추출물을 작용시킨 비만세포에서는 팽창 또는 탈과립이 관찰되지 않았다 (Fig. 2). 이상

의 결과들로부터 침향 물 추출물은 생체내에서 비만세포막을 안정화시켜 알레르기 반응을 억제하는 것으로 사료된다. 침향의 항알레르기 활성성분의 단리 및 세포수준의 정확한 작용기전 규명은 계속 연구 중에 있다.

## 결 론

침향의 항알레르기 효과 실험을 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흰쥐에서 48시간 PCA 반응 억제율은 침향 물 추출물 250 및 500 mg/kg 경구투여군에서 각각 91.7, 96.6%이었다.
2. 침향 물 추출물은 compound 48/80에 의해 유발된 아나필락시스성 속을 2중상으로 억제하였으며, 500 mg/kg의 용량에서 극대효과를 나타내었다.
3. 침향 물 추출물은 compound 48/80에 의한 흰쥐의 복강 비만세포로부터 히스타민의 유리를 용량의존적으로 억제하였다.
4. 침향 물 추출물은 흰쥐의 복강 비만세포막을 안정화시키는 것을 발견하였다.

## 감사의 말씀

이 논문은 '96학년도 원광대학교 교비 지원에 의해서 연구됨.

## 문 헌

- 1) 육창수, 이선주, 유승조, 김태희, 한영구, 이서윤, 문영

- 회, 한만우, 이경순 : 한국본초학, 계축문화사, 서울 p. 345 (1981).
- 2) 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, p. 1170 (1982).
  - 3) 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男 : 和漢藥物學, 南山堂, p. 176 (1983).
  - 4) Konishi, T., Sugimoto, A., Kiyosawa, S. and Fujiwara, Y. : Studies on the agarwood "jinko". Structures of pentahydroxy-2-(2-phenethyl) chromone derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 778 (1992).
  - 5) Ishihara, M., Tsuneya, T. and Uneyama, K. : Sesquiterpene constituents in agarwood. *Phytochemistry* **33**, 1147 (1993).
  - 6) Bhandari, P., Pant, P. and Rastogi, R. P. : Aquillochin, a coumarinolignan from *Aquilaria agallocha*. *Phytochemistry* **21**, 2147 (1982).
  - 7) Okugawa, H., Ueda R., Matsumoto, K., Kawanishi, K. and Kato, A. : Effects of agarwood extracts on the central nervous system in mice. *Planta Med.* **59**, 32 (1993).
  - 8) Coombs, R. R. A. and Gell, P. G. H. : *Clinical Aspect of Immunology*, Blackwell, Oxford, p. 575 (1968).
  - 9) Ishizaka, T., Chang, T. H., Taggart, M. and Ishizaka, K. : Histamine release from rat mast cells by antibodies against rat basophilic leukemia cell membrane. *J. Immunol.* **119**, 1589 (1977).
  - 10) Saito, H. and Nomura, Y. : *Pharmaceutical Research and Development*, Hirokawa, Tokyo, p. 22 (1989).
  - 11) Aridor, M., Traub, L. M. and Sagi, E. R. : Exocytosis in mast cells by basic secretagogues: Evidence for direct activation of GIP-binding proteins. *J. Cell Biol.* **111**, 909 (1990).
  - 12) Kawabata, T. T. and Babcock, L. S. : Measurement of murine ovalbumin-specific IgE by a rat basophil leukemia cell serotonin release assay. *J. Immunol. Methods* **162**, 9 (1993).
  - 13) Katayama, S., Shionoya, H. and Ohtake, S. : A new method for extraction of extravasated dye in the skin and influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiol. Immunol.* **22**, 89 (1978).
  - 14) Amir, S. and English, A. M. : An inhibitor of nitric oxide production, N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine-methyl ester, improves survival in anaphylactic shock. *Eur. J. Pharmacol.* **203**, 125 (1991).
  - 15) Shore, P. A., Burkhalter, A. and Cohn, V. H. : A method for fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **127**, 182 (1959).
  - 16) Kanemoto, T., Kasugai, T., Yamatodani, A., Ushio, H., Mochizuki, T. K., Kimura, M., Nishimura, M. and Kitamura, Y. : Supernormal histamine release and normal cytotoxic activity of beige rat mast cells with giant granules. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **100**, 99 (1993).
  - 17) Amellal, M., Bronner, C., Briancon, F., Haag, M., Anton, R. and Landry, Y. : Inhibition of mast cell histamine release by flavonoids and biflavonoids. *Planta Med.* **45**, 16 (1985).