약학회지 제42권 제 4 호 395~402(1998)
Yakhak Hoeji Vol. 42, No. 4

상백피 추출물 중의 항알러지 활성 성분의 분리

이은주 · 채옥희* · 이무삼* · 이헌구* · 허 훈#
서울대학교 약학대학, *전북대학교 의과대학

(Received March 26, 1998)

Purification of Anti-allergic Compound from Mori Cortex Radicis Extract

Eun Ju Lee, Ok Hee Chae*, Moo Sam Lee*, Hern-Ku Lee* and Hoon Huh#
College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
**School of Medicine, Chonbuk National University, Chonju 560-182, Korea*

Abstract— Mori Cortex Radicis, the root bark of mulberry tree, has been used in the treatment of bronchial asthma and other lung diseases in traditional medicine. There was a recent report that the water soluble part with molecular weight of above 10,000 has anti-allergic activity. Therefore, we intended to isolate and purify the anti-allergic compound from hot water extract of the Mori Cortex Radicis. Crude extract of Mori Cortex Radicis was prepared by hot-water extraction, and anti-allergic compound was further purified by alcohol precipitation, successive ultrafiltration, anion exchange chromatography and gel filtration chromatography. This compound had homogeneity which was shown by the sharp single peak in HPLC chromatogram (TSK-GEL® G4000PW column, RI detector). The molecular weight of the compound was estimated as 23 KDa on the basis of calibration curve plotted against protein standards. This compound was identified as complex of sugar, protein and lignin (19.2 : 5.9 : 72.7), and proteolysis could not decrease the anti-allergic activity but mild delignification decreased the activity remarkably. Therefore, we concluded that the anti-allergic compound of Mori Cortex Radicis was a lignin-carbohydrate complex.

Keywords □ Mori Cortex Radicis, anti-allergic effect, compound 48/80, chicken gamma globulin (CGG) and CGG-specific Ig E.

상백피(桑白皮, Mori Cortex Radicis)는 뽕나무과(Moraceae)에 속하는 산뽕나무(*Morus bombycis* Koidzumi), 뽕나무(*M. alba* L.) 및 동속식물의 뿌리 껍질로, 동속식물로는 *M. alba* L. 및 *M. multicaulis* Perrotlet의 변종과 노상나무(*M. lhou* Koidzumi), 몽고뽕나무(*M. mongolica* Schneid), 참털뽕나무(*M. tiliaefolia* Makino)가 한국에서 자생 또는 재배되고 있다.[1] 상백피는 예로부터 알러지 및 기관지천식(bronchial asthma)의 치료에 널리 이용되어 왔으며, 향소산(香蘇散), 오호탕(五虎湯), 청폐탕(淸肺湯), 사백산(瀉白散) 등 폐실증(肺失症)을 치료하는 처방 중의 구성 약재로 사용되어 왔다.[2]

상백피의 phenolic compounds인 kuwanon G, H, M 및 mulberrofuran F, G 등에서는 혈압강하 효과가 보고되었고,[3-7] Diels-Alder type adducts와 isoprenoid substituents를 가진 flavonoids가 항균작용을 나타낸다고 보고되었다.[7] Nomura 등[8]은 morusin hydroperoxide, oxydihydromorusin, chalcomorusin 및 compound A가 항바이러스 작용(MIC: 1.25~2.5 μg/ml)을 가진다고 보고하였으며, Nikaido 등[9]은 상백피의 phenolic compounds와 그 유도체들에는 cyclic AMP phosphodiesterase에 억제효과를 나타낸다고 보고하였다. 또한 Kimura 등[10]은 상백피의 phenolic compound가 흰쥐의 혈소판의 arachidonic

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-880-7859 (팩스) 02-884-6086

acid의 형성과 대사물에 영향을 미친다고 보고하였으며, Fujika 등[11]은 상백피의 flavonoids 성분이 생체 및 시험관 내에서 *tumor promotor teleocidin*의 효과를 억제한다고 보고하였다. 최근 Sergio[12]는 뽕나무의 뿌리 및 종자가 후천성 면역 결핍증(AIDS)의 치료에 효과적이라고 보고한 바 있으며, Hikino 등[13]은 상백피의 50% methanol 추출물로 부터 혈당강하작용을 나타내는 당단백질인 moran A를 분리하였다.

이상과 같이 상백피의 유기용매 추출물에 대한 연구는 활발히 진행되어 왔지만 물 추출물로부터 연구된 바는 거의 없었다. 상백피의 항히스타민작용에 대한 연구로, 근래에 소 등[14]은 상백피의 물 추출물을 흰쥐 복강 비만세포에 전처리하여 compound 48/80 용액에 의한 비만세포의 탈과립을 억제한다고 보고하였으며, 김과 전[15]은 물 추출물을 흰쥐의 복강내에 전처리한 후 compound 48/80을 투여하였을 때 시간 경과에 따라 장간막 비만세포의 탈과립율을 측정한 결과 흰쥐 장간막 비만세포의 탈과립을 억제한다고 보고하였다. 또한 전 등[16]은 생체내 실험에서 상백피를 ICR계 생쥐의 복강에 전처리한 후 compound 48/80에 의해 유도된 *anaphylactic shock*와 장간막 비만세포의 탈과립 및 히스타민 유리를 억제함을 보고하였고, 최[17]는 상백피 수층 추출물 중 분자량 10,000 이상의 분획에서 compound 48/80에 의한 비만세포의 탈과립 및 히스타민 유리를 억제한다고 보고하였으나 그 활성성분에 대한 연구는 거의 보고되지 않고 있다.

본 연구에서는 이상의 연구결과를 토대로 상백피의 수층 추출물 중 분자량 10,000 이상의 고분자 분획으로부터 compound 48/80 및 chicken gamma globulin (CGG)과 CGG-specific IgE에 의해 유도된 히스타민 유리를 억제하여 항알러지 활성을 나타내는 고분자 물질을 분리하였고 그 조성성분을 분석하고자 하였다.

실험방법

실험동물 – 실험동물은 체중 200~300 g의 Sprague-Dawley 계 흰쥐를 한국화학연구소(KRICT)로부터 구입하여 자웅 구별없이 사용하였다.

재료 및 시약 – 상백피(*M. alba* L.)는 농촌진흥청 잠사곤충연구소 이완주 박사가 제공한 것을 잘게 썰어 사용하였다. 추출에 사용된 유기용매는 1급 시약을, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다. Gel filtration molecular weight markers, 당 표준품, vanillin, papain 등은 Sigma 사에서 구입하였고, column 충진제인 DEAE Sephadex A-25, Sephadex G-75, G-100은 Pharmacia 사에서 구입하였다. 항알러지 활성을 측정하기 위하여는 compound 48/80(Sigma 사), Ca-Locke 용액, tris-glycine buffer, histamine N-methyl transferase, S-adenosyl(methyl-^{14}C) methionine(2 μCi/m*l*), perchloric acid, NaOH, toluene-isoamylalcohol(4:1), cocktail solution 등이 사용되었다.

복강 비만세포의 분리 – Cochrane과 Douglas[18]의 방법을 수정, 보완하여 이용하였다. 흰쥐를 에테르로 마취시키고, 후두부를 강타하여 치사한 후, 약 10 m*l*의 Ca-Locke 용액을 흰쥐의 복강 내에 주입하고 복벽을 소절개한 다음 복강세척액을 채취하여 1000 rpm으로 5 분간 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Ca-Locke 용액으로 재부유시켰다. 원심분리용 시험관에 isotonic percoll solution(10×Hank's solution 1 m*l* plus percoll 9 m*l*) 3.5 m*l*를 넣고 재부유된 비만세포 부유액 0.75 m*l*를 올려 놓은 후 Hank's solution 0.5 m*l*를 상층에 채우고 난 뒤 10 분 정도 정치시킨 다음 125×g로 15 분간 원심분리 시켰다. 원심분리 후 상징액을 제거한 다음 4°C Ca-Locke 용액으로 세척하여 1×10^5 cells/m*l*의 비만세포 부유액을 만들었다.

Compound 48/80에 의해 유도된 히스타민 유리량의 측정 – 분리된 복강 비만세포를 부유액내 비만세포가 1×10^6 cells/m*l*가 되도록 세포수를 조절한 후 200 μ*l* 씩 분주하였다. 정상 비만세포에서 유리되는 히스타민의 양을 측정하기 위하여 비만세포 부유액에 Ca-Locke 용액만을, compound 48/80에 의한 히스타민 유리작용을 보기 위하여는 25 μ*l*의 Ca-Locke 용액 투여 10 분 후 compound 48/80(10 μg/m*l*) 용액 25 μ*l*를 첨가하였다. 또, 상백피가 단독으로 비만세포의 히스타민의 유리를 유도하는지를 알아보기 위하여는 상백피 각 분획 25 μ*l*와 Ca-Locke 용액 25 μ*l*를 첨가한 후 10 분간 반응시켰다. 그리고 compound 48/80에 의한 히스타민 유리에 대한 상백피 각 분획의 억제작용을 알아보기 위해 25 μ*l*의 상백피를 10 분간 전처리하고 여기에 compound 48/80 용액 25 μ*l*를 첨가하여 30 분 동안 반응시켰다. 히스타민 양의 분석은 Harvima 등[19]의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다.

CGG-specific Ig E와 CGG에 의해 유도된 히스타민 유리량의 측정 - 분리된 복강 비만세포를 부유액 175 μl 내에 비만세포가 2×10^5 개가 되도록 세포수를 조절하였다. 정상 비만세포에서 유리되는 히스타민을 측정하기 위하여는 비만세포 부유액에 Ca-Locke 용액만을, CGG-specific Ig E와 CGG에 의한 흰쥐 복강비만세포로 부터의 히스타민 유리를 알아보기 위하여 비만세포 부유액 175 μl(2×10^5 cells)에 25 μl Ca-Locke 용액을 첨가하고 CGG-specific Ig E(10 mg/ml) 25 μl를 37°C에서 15 분간 반응시킨 후 CGG(1 mg/ml) 25 μl를 첨가하였고, 상백피 자체가 흰쥐 복강 비만세포로부터의 히스타민 유리에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 비만세포 부유액 175 μl에 Ca-Locke 용액 50 μl를 투여하고 상백피 용액 25 μl을 첨가한 후 37°C에서 30 분간 반응시켰고, CGG-specific Ig E가 복강 비만세포로부터의 히스타민 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여는 비만세포 부유액 175 μl에 Ca-Locke 용액 50 μl를 투여하고 CGG-specific Ig E(10 mg/ml) 25 μl을 첨가한 후 15 분 동안 반응시켰고, CGG가 흰쥐의 복강비만세포로 부터의 히스타민 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여는 비만세포 부유액 175 μl에 Ca-Locke 용액 50 μl를 투여하고 CGG(1 mg/ml) 25 μl을 첨가한 후 30 분 동안 반응시켰다. CGG-specific Ig E와 CGG에 의한 흰쥐 복강 비만세포로부터의 히스타민 유리에 미치는 상백피의 영향을 알아보기 위하여 CGG-specific Ig E(10 mg/ml)로 감작된 복강 비만세포 부유액 175 μl에 상백피 용액 25 μl를 10 분간 전처리한 다음 CGG(1 mg/l) 25 μl를 첨가한 후 30 분 동안 반응시켰다. 각각의 실험에서 얻은 상징액 내의 히스타민 양의 분석은 Harvima 등[19]의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다.

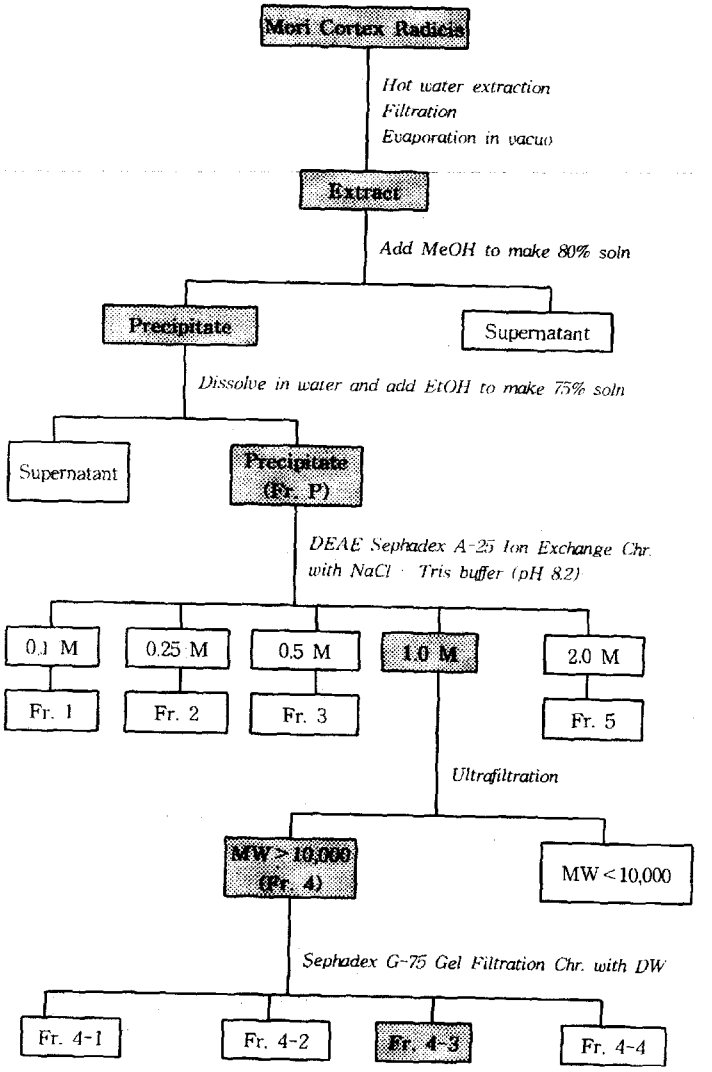
Crude extract의 제조 - 상백피 6 kg을 탈이온수 50 l로 3회 열탕추출한 후 여과하였다. 여액을 감압농축하여 소량의 수용액으로 만든 후 80% MeOH로 4회 반복하여 침전을 형성시킨 후 원심분리하여 침전을 얻었다. 얻어진 침전을 소량의 탈이온수로 녹인 다음 75% EtOH로 3회 반복하여 침전을 형성시킨 후 얻어진 침전을 동결건조하여 Fr. P(137 g)를 얻었다.

활성성분의 분리 - 50 mM tris buffer(pH 8.2)로 평형시킨 DEAE Sephadex A-25 ion exchange column(8 cm ID×30 cm)에 Fr. P(80 g)를 NaCl 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 M로 step gradient를 주어 용출시켜 5 개의 분획을 얻은 후, 각 분획을 ultrafiltration하여 분자량 10,000 이상의 분획 Fr. 1~5를 얻어 각 분획의 항알러지 활성을 검색하였다. 이 중 가장 큰 항알러지 활성을 나타내는 분획 Fr. 4(1.5 g)를 소량의 탈이온수로 녹인 후 동일 용액으로 평형시킨 Sephadex G-75 column (2.5 cm ID×92 cm)에서 용출시켜 4 개의 분획으로 나누고 각 분획의 항알러지 활성을 검색하였다 (Scheme I).

활성성분의 homogeneity의 확인 및 분자량 측정 - Fr. 4-3을 탈이온수에 녹여 TSK-GEL® G4000PW(7.5 mm ID×30 cm, Supelco, Inc.) gel filtration column 상에서 HPLC를 실시하여 homogeneity를 확인하였고, 분자량을 알고 있는 단백질 표준물질을 molecular weight marker로 하여 동일 column 상에서 0.5 M NaCl이 함유된 tris buffer로 용출시켜 HPLC를 실시하여 분자량을 측정하였다.

활성성분의 조성 분석

Carbohydrate의 정량 - 시료를 6 N trifluoroacetic acid로 121°C에서 6 시간 가수분해하여 당 표준품과 함께 TLC를 전개하여 anisaldehyde-H_2SO_4 시약, $AgNO_3$ 시약, α-naphthol 시약 등의 발색시약으로 확인하였다. Total hexoses의 함량은 glucose를 표준물질로 하여 phenol-sulfuric acid 법[20]에 따라 490 nm에서 측정하였고, uronic acids의 함량은 glucuronic acid를 표준물질로 하여 *m*-hydroxydiphenyl 법[21]에 따라 520 nm에서 측정하였으며, hexosamine의 함량은 glucosamine을 표준물질로 하여 Morgan과 Elson[22]의 방법에 따라 520 nm에서 측정하였다. 중성당의 함량은 GC를 이용하여 정량하였다. 시료를 6 N TFA 로 121°C에서 6 시간 동안 가수분해한 후 여과하여 여액을 농축하였다. *myo*-inositol을 내부표준물질로하여 농축한 시료 및 중성당 표준물질을 alditol acetate 유도체[23]를 만들어 CH_2Cl_2에 녹여 시료를 준비하였다. GC는 다음과 같은 조건 하에서 실시하였다. He을 carrier gas로 사용하고 유속을 30 ml/min(split ratio=1/100)로 하였으며, SP™-2380(0.25 mm ID ×30 m, Supelco, Inc.) capillary column 상에서 250°C에서 5 min 동안 유지시킨 후 270°C까지 2°C/min로 온도를 올려 GC-MS를 실시하여 중성당을 확인하였으며 동일조건으로 GC를 실시하여 표준물질의 peak 면적과 비교하여 검량선을 그려 중성당의 함량을



Scheme I — Extraction and purification.

측정하였다.

단백질 정량 – 단백질의 함량은 bovine serum albumin 용액을 표준물질로 하여 Bradford[24]의 방법에 따라 595 nm에서 측정하였다.

아미노산 분석 – 시료 중의 아미노산 분석을 위해 시료 1 mg을 6 M HCl에 녹인 후 질소를 충전하여 밀봉시켜 110°C에서 4 시간 가수분해한 다음 여과하여 침전을 제거하였다. 감압농축하여 건조시킨 시료를 0.08 M sodium citrate와 0.2 M HCl이 함유된 완충용액에 용해시킨 후 아미노산 분석기에 주입하여 분석하였다.

Lignin 정량 – 시료를 2 M HCl로 100°C에서 24 시간 반응시켜 가수분해한 후 ethylether로 추출하여 TLC를 하여 phloroglucinol-HCl 시약으로 발색시켜 확인하였고, lignin의 함량은 vanillin을 표준물질로 하여 acetylbromide 법[25]에 따라 280 nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

활성성분의 구성물질이 항알러지 활성에 미치는 영향 – Fr. 4-3을 구성하고 있는 성분이 항알러지 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 아래의 방법으로 단백질 및 lignin 부분을 분해하여 활성을 측정하였다.

Proteolysis – 20 mM · EDTA, 20 mM cysteine HCl이 들어 있는 0.5 M tris HCl(pH 6.8) 용액에 단백질 분해효소인 papain을 넣어 13 mg%(w/v)용액을 조제하였다. 시료 3 mg을 papain 용액 4 ml에 넣고

60~65°C에서 반응을 시킨 다음, 100°C에서 20 분간 가열하여 효소를 denaturation시켰다. 반응용액을 Sephadex G-100 column(1.0 mm ID×95 cm)에서 탈이온수로 용출시켜 염을 제거한 다음 히스타민 유리 억제 활성을 측정하였다.

Mild delignification - Asensio 등[26]에 의한 방법을 수정, 보완하여 mild delignification을 실시한 다음 Sephadex G-25 column(1.5 mm ID×50 cm)에서 용출시켜 Fr. 4-3-d1과 Fr. 4-3-d2를 얻어 히스타민 유리 억제 활성을 측정하였다.

결과 및 고찰

활성성분의 분리 및 분자량 측정 - 상백피의 열탕 추출물을 80% MeOH 및 75% EtOH로 침전시켜 crude extract인 Fr. P를 얻었다. Fr. P는 다시 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 M NaCl로 salt gradient를 주어 DEAE Sephadex A-25 ion exchange chromatography를 실시하여 5 개의 분획으로 나눈 후, 각 분획을 ultrafiltration하여 Fr. 1~5를 얻었다. 각 분획으로 부터 CGG와 CGG-specific Ig E에 의한 히스타민 유리에 대한 억제효과를 측정하였을 때(Fig. 1), 1.0 M NaCl로 용출된 분자량 10,000 이상의 분획에서 90% 이상의 큰 활성을 나타내었다. 각 분획의 조성을

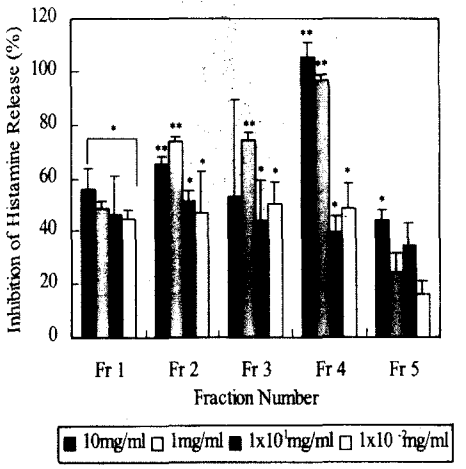


Fig. 1 — Inhibitory effects of each fraction from DEAE Sephadex A-25 ion exchange chromatography on histamine release induced by CGG and CGG-specific IgE (n=3)
*significantly different from control (P<0.01)
**significantly different from control (P<0.001)

Table I — Total hexose and uronic acid contents of each fraction from DEAE Sephadex A-25 ion exchange chromatography

	Total hexose (Wt %)	Uonic acid (Wt %)
Fr. 1	8.6	1.5
Fr. 2	15.9	3.7
Fr. 3	8.2	2.6
Fr. 4	28.3	4.4
Fr. 5	17.4	2.7

알아보기 위하여 total hexose 및 uronic acid의 함량을 측정한 결과 활성분획 Fr. 4는 다른 분획에 비해 당의 함량이 많은 고분자 물질로 추정되었다(Table I). 이에 가장 활성이 높은 Fr. 4를 선택하여 Sephadex G-75를 이용한 gel filtration을 실시하여 분자의 크기에 따른 활성성분의 분리를 시도하였고, 이로 부터 4 개의 분획을 얻어 각 분획의 활성을 측정하였다. 실험 결과 Fr. 4-3에서 가장 큰 활성을 나타내었고(Table II), positive control로 항염작용을 나타내는 ketotifen을 사용하여 동일 농도(1 mg/ml)에서 히스타민 유리에 대한 억제작용을 측정한 결과 Fr. 4-3과 ketotifen이 각각 72.7, 69.5%로 비슷한 정도의 히스타민 유리억제 작용을 보였다. Fr. 4-3을 다시 HPLC로 gel filtration을 하여 RI detector로 검출하였을 때 단일한 peak를 보여 성분의 homogeneity를 확인할 수 있었다(Fig. 2). Fr. 4-3의 대략적인 분자량을 추정하기 위해 분자량을 알고 있는 protein을 표준물질로 하여 gel filtration을 실시하여 분자량의 log 값과 용출시간과의 검량선으로 부터 분자량을 측정한 결과 Fr. 4-3의 분자량은 23 KDa의 고분자 물질로 추정되었다.

활성성분의 조성 분석 - 활성분획인 Fr. 4-3은 짙은 갈색을 띠고 있었으며, 활성성분의 조성을 분석하기 위

Table II — Inhibitory effects on histamine release of each fraction of gel filtration chromatography

	Inhibition of histamine release (%)	
	Histamine release induced by compound 48/80	Histamine release induced by CGG and CGG-specific IgE
Fr. 4	44.1±0.5*	74.8±13.5**
Fr. 4-1	-75.0±0.7	-49.2±11.5
Fr. 4-2	75.8±9.8**	82.8± 9.6**
Fr. 4-3	93.5±1.5**	92.0±13.4**

Results show mean±S.D (n=3).
*significantly different from control (P<0.01)
**significantly different from control (P<0.001)

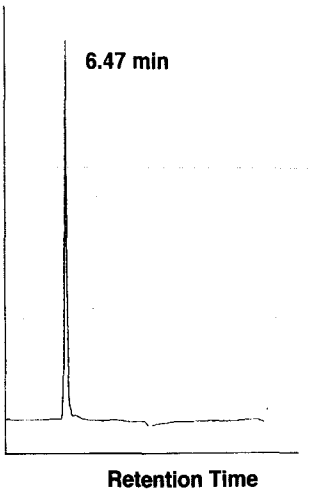


Fig. 2 — *Identification of homogeneity of Fr. 4-3 using HPLC.*

하여 가수분해하여 TLC 상에서 $FeCl_3$ 시약, Dragendorff 시약 등으로 발색시켜 보았을 때 음성반응이 나타났으나, Ninhydrin 시약, $AgNO_3$ 시약, α-naphthol 시약, phloroglucinol-HCl 시약으로 발색시켰을 때 아미노산, 당 및 lignin을 확인할 수 있었다. 또한 UV 상에서 검색하였을 때 200~300 nm 근처에서 lignin-carbohydrate complex에서 일반적으로 관찰되는 강한 흡광을 나타내었다. 이상의 결과로 보아 활성성분은 당, 단백질, lignin으로 구성되어 있을 것으로 추정되어 각각에 대해 정량한 결과 활성성분은 당, 단백질, lignin이 각각 19.2, 5.9, 72.7%로 구성되어 있었다(Table IV). 구성당의 조성을 알기 위해 uronic acid와 hexosamine의 함량을 측정하였고, 중성당의 함량은 alditol acetate로 유도체를 만들어 여러 종류의 단당을 표준품으로 하여 GC-MS로 확인하고 GC로 정량하였다(Table IV). 또한 단백질 부분을 구성하는 아미노산의 종류를 분석하기 위해 아미노산 분석기를 이용하여 분석한 결과 glycine을 비롯한 8 종의 아미노산으로 구성되어 있음을 알 수 있었다(Table V).

Table III — Purification protocol for Fr. 4-3 isolated from Mori Cortex Radicis

Purification	Yield (%)	[a]Specific activity
Water extract	100	
Alcohol precipitate	31.8	2.6
IEC and ultrafiltration	0.65	44.7
Gel filtration	0.15	82.0

[a] Inhibitory effects (%) of histamine release induced by compound 48/80 in the same concentration.

Table IV — Chemical composition of Fr. 4-3 (% by wt)

	Contents (% by wt)
Lignin	**72.7**
Total hexoses	**19.2**
Neutral sugars	5.8
Mannose	1.3
Galactose	0.9
Glucose	3.6
Uronic acids	6.7
Hexosamines	4.9
Protein	**5.9**

Table V — Relative content of amino acid of Fr. 4-3

Amino acid	% amount	Molar ratio
Asp	16.3	3
Glu	17.3	3
Ser	6.8	1
Gly	18.9	3
Arg	5.7	1
Thr	4.2	1
Ala	6.5	1
Pro	5.7	1

활성성분의 구성물질이 항알러지 활성에 미치는 영향 - Fr. 4-3을 구성하는 성분이 항알러지 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 단백질 및 lignin을 분해하였다. 시료에 단백질 분해효소인 papain을 처리, 단백질 부분을 제거하여 Fr. 4-3-p를 얻었고, $NaClO_2$로

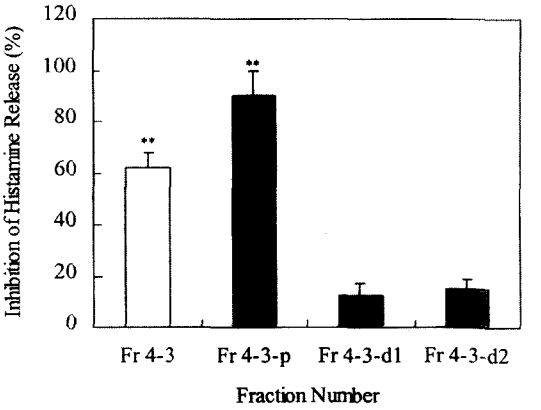


Fig. 3 — Inhibitory effects on histamine release of proteolytic and mild-delignified products of Fr. 4-3 (n=3)
** significantly different from control ($P<0.001$)
Fr. 4-3-p : The proteolytic product of Fr. 4-3
Fr. 4-3-d : The mild-delignified products of Fr. 4-3

mild delignification을 시켜 Fr. 4-3-d1, 4-3-d2를 얻어 각각의 활성을 측정하여 Fr. 4-3과 비교하였다. 그 결과 단백질 부분을 제거한 경우 Fr. 4-3에 비해 활성이 저하되지 않고 오히려 조금 더 증가한 반면, lignin 부분이 분해된 경우에는 활성이 크게 저하되었다(Fig. 3). 이상의 결과로 보아 단백질 부분은 항알러지 활성에 영향을 미치지 못하는 반면 lignin 부분이 활성에 영향을 미치는 부위라 생각할 수 있었다.

결 론

1. 상백피의 물 추출물로부터 항알러지 활성을 나타내는 고분자 물질을 분리하였고, HPLC로 gel filtration을 하여 RI detector로 검출하여 단일 peak를 확인하였다.

2. Protein molecular weight marker를 표준물질로 하여 활성성분의 분자량을 측정한 결과 약 23 KDa로 추정되었다.

3. 활성성분은 carbohydrate : protein : lignin(19.2:5.9:72.7)로 이루어진 복합체였다.

4. 활성성분의 조성이 활성에 미치는 영향을 실험한 결과 단백질 부분은 활성에 큰 영향을 미치지 않았으나 lignin 부분을 분해하였을 때에는 활성이 현저하게 저하되었다.

5. 이상의 결과로 볼 때 상백피 중의 항알러지 활성을 나타내는 성분은 lignincarbohydrate complex로 추정되었다.

6. 활성성분과 ketotifen과의 비교실험을 하였을 때 각각 72.7, 69.5%의 히스타민 유리억제 작용을 보였다.

감사의 말씀

본 실험은 보건복지부 신약개발과제의 연구비 지원에 의해 연구된 결과로 이에 감사드리며 또한 본 실험의 실험재료인 상백피를 제공해 주신 농촌진흥청 잠사곤충연구소 이완주 박사께 감사드립니다.

문 헌

1) 한대석 외 : 생약학, 동명사, 서울, p 118 (1991).
2) 한국 생약학 교수협의회 : 본초학, 대한약사회, 서울, p 614 (1994).
3) Nomura, T. and Fukai, T. : Kuwanon G, a new flavone derivatives form the root barks of the cultivated mulberry tree (*Morus alba* L.). *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 2548 (1980).
4) Nomura, T., Fukai, T. and Narita, T. : Hypotensive constituent, kuwanon H, a new flavone derivative from root barks of the cultivated mulberry tree (*Morus alba* L.). *Heterocycles* **14**, 1943 (1980).
5) Nomura, T., Fukai, T., Hamo, Y. and Ikuta, H. : Kuwanon M, a new Diels-Alder adduct from the root barks of the cultivated mulberry tree (*Morus ihou Koidz*). *Heterocycles* **20**, 585 (1983).
6) Nomura, T., Fukai, T. Matsomoto, J. and Ohmori, T. : Constituents of the cultivated mulberry tree. III. Components of root barks of *Morus bombycis*. *Planta Med.* **46**, 28 (1982).
7) Fukai, T., Hanno, Y., Hirakura, K., Nomura, T. and Uzawa, J. : Constituents of the cultivated mulberry tree. XXV. Structures of two natural hypotensive Diels-Alder type adducts, mulberrofurans F and G from the cultivated mulberry tree (*Morus ihou Koidz*). *Chem. Pharm. Bull* **33**, 3195 (1985).
8) Nomura, T. : Phenolic constituents of the root barks of the mulberry tree. Proceeding of the 28th Symposium on Phytochemistry, p 1, Tokyo, Japan (1984).
9) Nikado, T., Ohmoto, T., Nomura, T., Fukai, T. and Sankawa, U. : Inhibition of adenosine 3, 5, -cyclic monophosphate phosphodiesterases by phenolic constituents of mulberry tree. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 4929 (1984).
10) Kimura, Y., Okuda, T., Nomura, T., Fukai, T. and Arichi, S. : Effects of flavonoids and related compounds from mulberry tree on arachidonate metabolism in rat platelet homogenates. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 1223 (1986).
11) Fujika, H., Horiuchi, T., Yamashita, K., Hakii, H., Suganuma, M, Nishino, H., Iwashima, A., Hirata, Y. and Sugimura, T. : Inhibition of tumor promotion by flavonoids. In **Plant flavonoids in biology and medicine**-*Biochemical pharmacological and structure-activity relationships*. Cody, V., Middleton, Jr., E., Harborne, J. B. (eds.). Alan R.

Liss, Inc., New York, p 429 (1986).
12) Sergio, W. : Mulberry root and seeds may be effective in the treatment of AIDS. *Med. Hypothesis* **29**, 75 (1989).
13) Hikino, H., Mizuno, T., Oshima, Y. and Konno, C. : Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks. *Planta Med*. **51**, 159 (1985).
14) 소순남, 김정수, 전병득, 이무삼 : 상백피가 백서 복강 비만세포에 미치는 영향에 관한 세포형태학적 연구. 전북의대 논문집 **10**, 221 (1986).
15) 김정수, 전병득 : 상백피가 백서 장간막 비만세포에 미치는 영향. 전북의대 논문집 **10**, 231 (1986).
16) 전병득, 송창호, 최영숙, 박병건, 이무삼 : 상백피가 compound 48/80에 의해 유도된 anaphylactic shock와 비만세포의 히스타민 유리에 미치는 영향. 대한 해부학회지 **24**, 193 (1991).
17) 최명희 : 상백피로부터 항알레르기효과를 갖는 활성성분의 분리. 전북대학교 화학과 석사학위논문 (1994).
18) Cochrane, D. E. and Douglas, W. W. : Calcium-induced extrusion of secretory granule (exocytosis) in the mast cells exposed to compound 48/80 or the Ionophore A23187 and X-537A. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* **71**, 408 (1974).
19) Harvima, R. J., Harvima, I. J. and Fraki, J. E. : Optimization of histamine radioenzymatic assay with purified N-methyltransferase. *Clinica Chimica Acta* **171**, 247 (1988).
20) Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. : Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem*. **28**, 350 (1956).
21) Montreuil, J., Bouquelet, S., Debray, H., Fournet, B., Spik, G. and Strecker, G. : Glycoproteins In *Carbohydrate analysis-A practical approach*. Chaplin, M. F. and Kennedy, J. F. (eds), IRL press, Oxford, England, p 175 (1986).
22) Beeley, J. G. : Analysis of constituents In Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Burdon, R. H. and van Knippenberg, P. H. (eds), Elsevier Science Publishers B. V., Belgium, p 111 (1985).
23) Blakeney, A. B., Harris, P. J., Henly, R. J. and Stone, B. A. : A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Res*. **113**, 291 (1983).
24) Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem*. **72**, 248 (1976).
25) Iiyama, K. and Wallis, A. F. A. : Determination of lignin in herbaceous plants by an improved acetylbromide procedure. *J. Sci. Food Agric*. **51**, 145 (1990).
26) Asensio, A. and Seoane, E. : Polysaccharides from the cork of Quercus suber, 1. holocellulose and cellulose. *J. Nat. Prod*. **50**, 811 (1987).