

원 지

苦蔘 煎湯液 分割物이 순환기 Anaphylaxis에 미치는 영향

권강범, 김구환, 전영석, 조현익, 김영석²⁾, 박관하²⁾, 백승화¹⁾, 류도곤

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 원광대학교 한의학 전문대학원¹⁾, 군산대학교 해양과학대학 해양생명의학교실²⁾

Effects of *Sophorae Radix* Fractionations on Cardiovascular Anaphylaxis in Pithed Rats

Kang-Beom Kwon, Gu-Hwan Kim, Young-Seok Jeon, Hyeon-Ik Jo, Young-Suk Kim²⁾,
Gwan-Ha Park²⁾, Seung-Hwa Baek¹⁾, Do-Gon Ryu

Department of physiology, college of oriental medicine
Professional graduate school of oriental medicine, Wonkwang Univ., Iksan¹⁾,
Department of marine biomedical science, College of Ocean Science & Technology, Kunsan National Univ., Korea²⁾

Objectives and Methods : Unlike respiratory anaphylaxis responses, mediators responsible for cardiovascular responses are not clearly elucidated. Main characteristics of cardiovascular anaphylaxis include hypotension and cardiac failure (arrhythmia and cardiac contraction failure). In this experiment, the fractionations of *Sophorae Radix* (SR) were tested for its preventive effects against cardiovascular anaphylaxis in pithed rats.

Results : Of the SR fractionations, water fractions, at the concentration of 20 and 60mg/kg, was significantly effective on all the cardiovascular changes in pithed rats. Also, of the cardiovascular changes, depressor response was significantly attenuated by the ethyl acetate (EA) fraction, at the concentration of 60mg/kg.

Conclusions : These results suggest that water and EA fractions of the SR fractionations possess anti-anaphylactic effects in pithed rats. Additional research is needed to identify active principles for the observed pharmacological effects. (*J Korean Oriental Med* 2000;21(2):37-42)

Key Words: Anaphylaxis, *Sophorae Radix* (SR), Pithed rats, Ethyl acetate (EA) fraction

서 론

豆科에 屬한 多年生 草本인 苦蔘(*Sophorae Radix*)은 『神農本草經』에 最初로 記載된 이래 그 藥性, 主治 및

效能이 研究되어 졌으며 心, 肝, 胃 大腸 및 膀胱에 歸經하고, 味는 苦하고 性은 寒하여 清熱燥濕, 祛風殺蟲, 利水 등의 效능이 있다고 하였다²⁾.

순환기 anaphylaxis 반응은 혈관의 현저한 이완작용(저혈압)과 cardiac failure(부정맥, 심근수축력저하) 등이 특징적인 반응으로 histamine, leucotrien, platelet-activating factor, serotonin, bradykin, prostaglandin 등의 많은 물질들이 치료를 위하여 시도되었으나 어떤 물질도 미약한 수준 이상으로 차단하지 못하였다³⁾. 오래

· 접수 : 2000년 5월 23일 · 수정 : 7월 11일 · 채택 : 8월 4일
· 교신저자 : 류도곤, 원광대학교 한의과대학 생리학교실
(Tel. 063-850-6846, E-mail:tkryu@wonkwang.ac.kr)
* 본 연구는 1997년도 한국 한의학 연구원 한의학 발전 연구 지원사업(HMP-99-0-11-0003-C)의 지원에 의하여 수행됨.

전부터 순환기 anaphylaxis 과정을 매개하는 중요한 매개인자로 인정되어온 물질은 histamine이다¹⁰⁾. 이는 anaphylaxis 유발시 일어나는 현상이 마치 외부에서 histamine을 투여했을 때 나타나는 약리작용과 매우 유사하기 때문이다. Histamine은 용량에 따라서 혈압의 상승 또는 하강을 유발하며 anaphylaxis시에 확인되는 혈중농도의 범위에서 초기에는 혈압상승이 나타나고 시간이 지나면서 저혈압으로 전환된다. 이런 anaphylaxis 중 호흡기 기능에 관련된 반응은 잘 차단되나 순환기 반응을 효과적으로 차단하는 단일 약물은 알려져 있지 않다¹¹⁾. 또한 순환기 anaphylaxis 반응이 IgE 매개 반응이 아닐 가능성이 있는 점¹²⁾으로 보아 지금까지 알려진 항 allergy 치료제들과는 상이한 기전을 가진 물질이 유효할 것으로 추측되어 본 실험을 수행하였다.

본 실험실에서는 苦蔘의 물 추출물 300 mg/kg, 750 mg/kg 투여군에서 initial pressor response를 유의하게 방어하는 결과를 얻었다. 이를 토대로 본 연구에서는 苦蔘에서 항anaphylaxis 작용이 있는 물질을 찾아내기 위하여 물과 몇가지 유기용매를 사용하여 얻은 苦蔘 분획물들을 얻어 실험적으로 유발한 pithed rats에 투여하여 cardiovascular changes를 측정하여 순환기 anaphylaxis 반응에 미치는 효과를 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 200-250 g 내외의 웅성 Sprague-Dawley에 21 ± 2°C의 온도와, 55 ± 5%의 습도로 1일 12시간 조명조건에서 사육하였다. 사료(제일제당) 및 물(수도수)은 충분히 공급하였으며 실험실 환경에 2주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 약재 및 시약

1) 약재 : 본 연구에 사용한 苦蔘은 원광대학교 한의과대학 한방병원에서 구입한 것을 사용하였다. 苦蔘 100 g을 3000 ml 삼각 플라스크에 1차 증류수 900 ml을 넣고, 전열기로 3시간 동안 물 증탕하여 환류추출하였

다. 이와같이 하여 얻은 추출물을 0.4 μm 필터로 여과한 후, 여과액을 증류기로 감압 농축시킨 후 냉동 건조하여 11.93 g의 분말 시료를 얻었다. 이후 한 등의 방법¹³⁾에 따라 계통분획을 하여 hexane 가용부 0.12 g, chloroform 가용부 2.32 g, ethyl acetate 가용부 1.72 g, butanol 가용부 15.4 g, 물 가용부 50.8 g을 얻었다.

2) 시약 : 본 실험에 사용한 turkey egg albumin (Grade VI)은 Sigma (St. Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다.

3. 실험방법

1) Pithed rat의 잠작 : 웅성 Sprague-Dawley rats (약 250 g)에 turkey egg albumin (ovalbumin, Grade VI, Sigma)을 saline에 20 mg/ml의 농도로 용해하여 40 mg/kg 용량으로 복강내로 1일 1회 연속 2일간 투여하여 잠작하였다. 처음 투여 후 21일째에 시험을 행하였다.

2) Pithed rat에서의 약효시험 : 실험일에 동물을 ether로 가볍게 마취하고 직경 2.2 mm의 철사로 제작한 pithing rod를 우측 orbit을 통해 spinal column으로 삽입하였다. Rodent respirator를 이용하여 1 ml/100 g (b.w.)의 비율로 분당 60회, 실내공기를 인공적으로 공급하면서 동물은 항온수조를 사용하여 체온을 37°C로 유지하도록 하였다. Thoracic sympathovagal nerve를 절단하고 우측 carotid artery는 혈압 및 맥박을 측정하기 위해 PE-50의 polyethylene cannula를 삽입하였다. 항원(ovalbumin, 40 mg/kg)은 jugular vein에 삽입한 cannula를 통해서 투여하였다. Aterial blood pressure는 pressure transducer를 이용하여 측정하였으며 심장박동수는 cardiometer를 이용하여 측정하여 physiography (Polygraph 4006, Barcelona, Spain)로 기록하였다.

3) 시험약물의 투여 : 苦蔘을 계통분획하여 얻은 가용부 중 물 가용부 20, 60 mg/kg, ethyl acetate 가용부 20, 60 mg/kg, butanol 가용부 60, 180 mg/kg, hexane 가용부 60 mg/kg, chloroform 가용부 20, 60 mg/kg의 농도로 각각 1일 1회 일주일간 10 ml 존대를 사용하여 구강 투여한 후 실험하였다.

4. 통계처리

모든 data는 평균±SEM으로 표현하였으며 대조군과의 차이는 unpaired t-test를 사용하여 검정하고 p<0.05 일 때 두 군의 평균값의 차이에 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 물 추출물의 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과
Ovalbumin으로 감작된 pithed rats에 물 추출물 20 mg/kg, 60 mg/kg의 농도로 구강투여한 후 여러 가지 parameter를 관찰하여 순환기 anaphylaxis에 대한 방어 효과를 관찰하였다.

Depressor response의 경우 대조군 (62.1±4.7 -mmHg)에 비하여 물 추출물 20, 60 mg/kg의 농도로 투여한 경우 각각 54.4%, 48.3%로 유의하게 감소하였으며, tachycardia의 경우 대조군 (19.4±2.4 +bpm)에 비하여 각각 15.5%, 25.8%로 유의하게 감소하였다(Fig. 2-3). 그리고 blood pressure (BP) recovery time은 대조군 (435.0±38.3 sec)에 비하여 20, 60 mg/kg의 농도로 투여한 경우 206.0±61.4, 204.0±50.1 sec로 각각 52.6%, 53.1% 유의하게 단축시켰으며, heart rate (HR) recovery time은 대조군 (440.0±59.5)에 비하여 186.0±58.7, 220.0±40.1 sec로 각각 57.5%, 50.0% 유의하게 단축시켰다(Table 1).

2. Ethyl Acetate (EA) 추출물의 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과

Ovalbumin으로 감작된 pithed rats에 EA 추출물 20 mg/kg, 60 mg/kg의 농도로 구강투여한 후 여러 가지 parameter를 관찰하여 순환기 anaphylaxis에 대한 방어 효과를 관찰하였다.

EA 추출물 20, 60 mg/kg의 농도로 투여했을 때 depressor response의 경우 대조군 (62.1±4.7 -mmHg)에 비하여 각각 86.0%, 60.9%로 감소하였으며, tachycardia의 경우 대조군 (19.4±2.4 +bpm)에 비하여 각각 123.7%, 118.6%로 증가하였다(Fig. 2-3). 그러나 blood pressure (BP) recovery time과 heart rate (HR) recovery time은 대조군에 비하여 모두 유의한 변화를 보이지 않았다(Table 1).

3. Butanol (BU), Hexane (HE) 및 Chloroform (CH) 추출물의 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과

Ovalbumin으로 감작된 pithed rats에 BU 추출물 60 mg/kg, HE 추출물 60 mg/kg, CH 추출물 20 mg/kg의 농도로 구강투여한 후 여러 가지 parameter를 관찰하여 순환기 anaphylaxis에 대한 방어 효과를 관찰하였다.

BU 추출물은 모든 parameter에서 유의한 변화를 나타내지 못했으며, HE 추출물에서 depressor response가 대조군에 비하여 18.7% 감소하였고 tachycardia가 26.8% 감소하였으나 유의한 변화는 보이지 않았으며

Table 1. Effects of SR Fractionations on Cardiovascular Anaphylaxis in Pithed Rats

Parameters	Control	Water extract		EA extract		BU extract	HE extract	CH extract
		20 mg/kg	60 mg/kg	20 mg/kg	60 mg/kg	60 mg/kg	60 mg/kg	20 mg/kg
Number of experiment	8	5	5	5	6	5	5	5
Basal mean arterial (mm Hg)	123.4±3.1	122.0±2.8	119.6±6.8	127.0±6.0	120.7±3.7	126.4±4.3	119.3±5.3	118.2±4.7
Basal heart rate (beats/min)	386.8±16.8	396.7±17.3	363.0±22.1	380.0±20.7	383.8±17.5	352.0±18.8	375.0±21.4	374.0±30.8
BP recovery (sec)	435.0±38.3	206.0±61.4*	204.0±50.1*	434.0±62.6	388.3±42.2	430.0±61.6	505.0±75.6	468.0±91.2
HR recovery (sec)	440.0±59.5	186.0±58.7*	220.0±40.1*	430.0±67.7	406.7±53.7	420.0±37.7	513.3±75.3	464.0±85.4

Animals were actively sensitized by injecting ovalbumin (40 mg/kg, ip) twice on two consecutive days and the experiments were done on the 21st day. Each value represents the mean±SE. The SR fractionations (water fraction 20, 60 mg/kg, ethyl acetate (EA) fraction 20, 60 mg/kg, butanol (BU) fraction 60 mg/kg, hexane (HE) fraction 60 mg/kg, chloroform fraction (CH) fraction 20 mg/kg) were orally administered for seven consecutive days before the experiment, and the experiment was carried out 1hr the last dosing. BP; blood pressure, HR; heart rate. * significantly different from the control group at p<0.05 by Student, t-test.

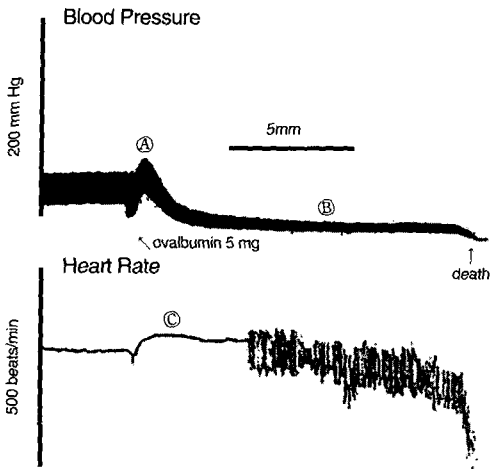


Fig. 1. A typical cardiovascular anaphylaxis response in pithed rats. The initial pressor response is designated as (A) and the sustained depressor response as (B), respectively, in the blood pressure tracing. The tachycardic response was monitored at (C).

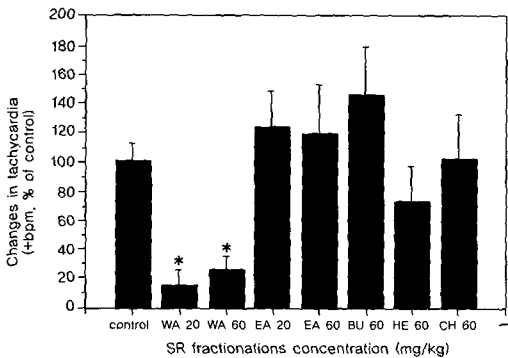


Fig. 3. Effects of SR fractionations on tachycardia of ovalbumin-induced cardiovascular anaphylaxis in pithed rats. Other legends are the same as table 1.

CH 추출물 역시 모두 유의한 변화를 보이지 않았다 (Table 1, Fig 2-3). 한편 BU 추출물 180 mg/kg와 CH 추출물 60 mg/kg의 농도로 투여하였으나 각각 독성이 강하여 시험약재 투여 수분내에 사망하였기 때문에 약효의 시험이 불가능하였다.

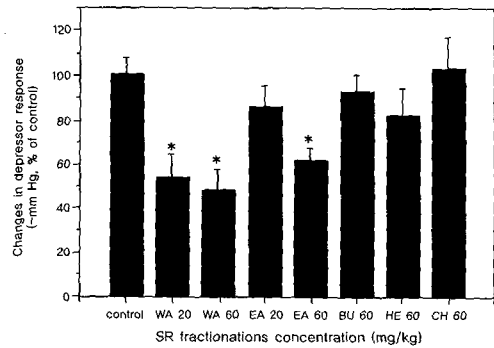


Fig. 2. Effects of SR fractionations on depressor response of ovalbumin-induced cardiovascular anaphylaxis in pithed rats. Other legends are the same as table 1.

고찰

많은 종류의 항원들이 인간에서 급격하고 전신적인 allergy 반응을 유발할 수가 있으며 이 반응을 anaphylaxis 반응이라 한다¹⁴⁾. 과거에는 순환기 기능의 저해가 기관지 수축 및 후두염증에 기인한 호흡장애의 이차적인 현상이라고 생각되었으나, 최근에는 호흡장애가 수반되지 않는 anaphylaxis 조건에서도 혈관 말초저항의 강하, 혈액용적 급감, 심실성 부정맥이나 심근경색 등 순환기 장애현상이 일어나는 것이 관찰되어 호흡장애와 순환기 현상은 별개의 과정이라고 생각하고 있다¹⁵⁾. 순환기 장애현상으로 T wave의 전도, bundle의 전도장애, 관상혈관 수축 및 심장마비까지 이르게 되어 사망하게 되는데 이러한 현상을 종합해보면 anaphylaxis의 발생에서 중요한 병리학적 장기는 호흡기가 아니라 순환기일 것이라고 하는 의견이 지배적이다. 순환기 anaphylaxis가 발생하면 심장의 손상 및 말초혈관의 이완에 의한 순환기 기능의 부전으로 shock현상이 일어나 사망률이 높다^{19,21)}. Shock은 조직혈류가 광범위하게 그리고 심하게 감소되는 상태라고 정의할 수 있으며, 한의학에서 임상증상상 유사한 기체가 있으며 厥症과 脫症의 범주에 속한다고 볼 수 있다²²⁾. 厥症은 外感六淫, 內傷七情, 심한 嘔逆과 泄瀉, 출혈 등으로 氣血이 逆亂하거나 陰陽이 不調하여 發生되며, 갑작스러운 昏倒로 人事不省, 혹은 四肢逆冷을 주증상으로 하는 病症이며, 脫

症은 正氣가 虛脫하여 五臟之氣가 쇠약하여 끊어지려 하는 것으로 역시 갑작스러운 昏倒로 人事不省, 脈微細 등을 주증상으로 하는 病症이다^{22,24)}.

苦蔘은 神農本草經¹⁾에 “主心腹結氣, 癥瘕, 積聚...”라고 기재되어 심혈관 질병 치료의 근거가 되고 있으며, 味苦, 性寒하고 歸經은 心, 肝, 胃, 大腸, 膀胱 등이라고 하였는데 특히 그 苦味로 心經의 火를 다스린다고 하였다^{2,5)}.

인간에서 일어나는 현상과 유사한 anaphylaxis 반응을 실험동물에서도 유도할 수가 있는데 Melli¹⁶⁾의 guinea pig나 rabbit에서 단백질 항원으로 감작시킨 후 anaphylaxis를 유발하면 혈압의 순간적인 증가가 발생하며 시간이 지나면서 현저한 저혈압으로 발전되는 model이나 Levi¹⁷⁾가 animal의 무마취 또는 마취상태에서 anaphylaxis를 유발하였는데 미리 항원으로 감작시킨 토끼, 개, guinea pig에 항원을 단시간에 투여하면 급격한 순환기 반응이 유발된다고 하였다. 본 실험에서는 Levi¹⁸⁾의 moel을 기초로 하여 항원인 turkey egg albumin (OVA)을 40 mg/kg의 용량으로 복강내로 1일 1회 연속 2일간 투여하여 감작시킨 후 21일째에 시험을 행하였다. OVA로 감작시킨 pithed rat에서 항원 OVA에 의해 유발되는 전형적인 순환기 반응은 항원 투여 직후 pressor response와 tachycardia가 나타나며 시간이 지남에 따라 pressor response는 지속성 있는 depressor response로 전환되며 동물은 부정맥으로 인하여 사망하게 된다 (Fig. 1).

본 실험실에서는 이전의 실험에서 苦蔘 전탕액을 OVA로 감작시킨 pithed rat에 300 mg/kg, 600 mg/kg의 농도로 투여한 결과 pressor response를 각각 45%, 64% 차단하는 결과를 얻었다. 이에 苦蔘을 한 등¹³⁾의 방법에 따라 유기용매로 계통 분획하여 각각의 추출물의 pithed rats에서 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과를 관찰하여 어느 층이 방어효과를 나타내는지 알아보고자 실험을 수행하였다.

그 결과 苦蔘 전탕액 분획물 중 물 가용부(추출물)가 순환기 anaphylaxis에 대하여 유의한 방어효과를 나타냈으며 ethyl acetate 가용부의 경우 20 mg/kg의 경우 유의한 방어효과를 나타내지 않았으나, 60 mg/kg의 경우

depressor response, tachycardia의 경우에서 유의한 방어효과를 나타냈다. 이러한 결과로 보아 苦蔘 전탕액의 분획물 중 물 추출물과 ethyl acetate 추출물에서 순환기 anaphylaxis로 인한 shock에 효과가 있을 것으로 사료되며 이들 추출물에 대한 최적분리조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리한 다음, 구조확인 및 보다 다양한 anaphylaxis 병태모델에 대하여 각 성분의 항알러지활성을 측정한다면 새로운 한약재의 개발도 가능하리라 사료된다.

결론

苦蔘 추출물을 실험적으로 유발한 pithed rat에서 순환기 anaphylaxis 반응에 대하여 방어효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 苦蔘 물 추출물 20 mg/kg 투여군은 ovalbumin에 의해 유발된 순환기 anaphylaxis반응의 모든 parameter에서 유의한 방어효과를 나타냈다.
2. 苦蔘 물 추출물 60 mg/kg 투여군은 ovalbumin에 의해 유발된 순환기 anaphylaxis반응의 모든 parameter에서 유의한 방어효과를 나타냈다.
3. 苦蔘 ethyl acetate 추출물 60 mg/kg 투여군은 ovalbumin에 의해 유발된 순환기 anaphylaxis반응 중 depressor response에 대하여 유의한 방어효과를 나타냈다.

참고문헌

1. 吳 普. 補注神農本草. 서울:醫聖堂. 1994:7.
2. 王好古. 湯液本草. 서울:醫聖堂. 1994:111-112.
3. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1995:798-802.
4. 孟憲紓. 中成藥分析. 北京:人民衛生出版社. 1990:297-298.
5. 李廣勛. 中藥藥理毒理與臨床. 河北:天津科技翻譯出版公司出版. 1992:63-64.
6. Bakathir HA, Gissler J, Hirschelmann R. Rat heart anaphylaxis: Influence of mediator antagonists. Gen Pharmacol. 1991;22(4):673-675.
7. Mathison R, Davison JS, Befus AD. Platelet activating

- factor and systemic anaphylaxis in *Nippostrongylus brasiliensis*-sensitized rats: Differential effects of PAF antagonists. *Br J Pharmacol*. 1992;106:263-266.
8. Jolly SR, Travis J, Van-Inwegen RG. Effects of 5-lipoxygenase inhibition on cardiac anaphylaxis in isolated guinea pig hearts. *Pharmacology*. 1989; 38:352-362.
 9. Brandt A, Giessler J, Hirschelmann R. Investigation on non-genomic effects after glucocorticoid megadoses in rat heart anaphylaxis. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 1994;7:119-124.
 10. Von Euler US. Relationship between histamine and the autonomous nervous system. In: Rocha e Silva M eds. *Histamine and anti-histaminics*. Berlin:Heidelberg. New York:Springer. 1966:318-333.
 11. Berg T, Schlichting E, Ishida H, Carretero OA. Kinin antagonist does not protect against the hypotensive response to endotoxin, anaphylaxis or acute pancreatitis. *J Pharmacol Exp Ther*. 1989;251:731-734.
 12. Lei HY, Chen HI, Chan SH, Leir SS, Lin SB, Wing LYC. Antigen-specific tachycardia and hypotension. *Clin Exp Allergy*. 1992;22:767-773.
 13. 한두석 외 5인. 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발 (제 6부); 금은화·Ethyl Acetate 가용성 분획의 인체 구강유상피암종세포에 미치는 독성작용. *한국생약학회지*. 1998;29(1): 22-27.
 14. Wasserman SI. Anaphylaxis. In: Middleton E, Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. *Allergy: Principles and practice*. St Louis. CV Mosby. 1983:689.
 15. Wasserman SI. The heart in anaphylaxis. *J Allerg Clin Immunol*. 1986;77:663-666.
 16. Melli G, Folli G, Mazzei D, Vitolo E, Sacchi A. Shock organ and shock tissue in various animal species. *Acta Allergol*. 1963;18:188-210.
 17. Levi R. Cardiac anaphylaxis: Models, mediators, mechanisms, and clinical considerations. In: *Humaninflammatory disease*. Clinical Immunology. vol 1. Marone eds. Decker:Toronto, 1988:93-105.
 18. Balzo U, Polley M, Levi R. Cardiac anaphylaxis: Complement activation as an amplification system. *Cir Res*. 1989;65:845-847.
 19. Kurt J Isselbacher. HARRISON'S 내과학. 서울:도서출판 정담. 1997:205-210,1677-1678,1759-1761.
 20. 김민호 외. 사백산이 Compound 48/80에 의하여 유도된 Anaphylaxis Shock와 피하반응에 미치는 영향. *대한한의학회지*. 1990;11(2):?.
 21. 대한병리학회. 병리학. 서울:고문사. 1990:190-192.
 22. 이경섭 외. 동의심계내과학. 서울:서원당. 1995:상권;364-367,371,372. 하권;180-181.
 23. 김동일 외. 동의학사전. 서울:여강출판사. 1989:162-163,875.
 24. 董黎明. 실용중의내과학. 상해:상해과학기술출판사. 1986:62-65,82-83,330,451-458.
 25. 陳馥馨. 신편중성약수책. 북경:중국의약과기출판사. 1994:379-381.