

# 加味清鼻飲이 알러지반응에 미치는 영향

김광식 · 이동희 · 권영안<sup>1</sup> · 최서영<sup>2</sup> · 은재순\*

우석대학교 약학대학, 1: 우석대학교 이공대학, 2: 하나동서의학연구소

## Effect of Kamichungbieum on Allergic Reaction

Kwang Sik Kim, Dong Hee Lee, Young An Kwon<sup>1</sup>, Suh Young Choi<sup>2</sup>, Jae Soon Eun\*

Department of Pharmacy, 1: Department of Science and Engineering, Woosuk University, 2: Hana East-West Medical Center

The purpose of this research was to investigate the effects of supercritical fluid extract of *Kamichungbieum* (SFE) on allergic reaction. SFE (500 mg/kg) inhibited the systemic anaphylaxis induced by compound 48/80 or platelet activating factor and inhibited the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) induced by anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE and DNP-human serum albumin (HSA) *in vivo*. Also, SFE inhibited the SRBC-induced delayed type hypersensitivity and inhibited the hind paw edema induced by histamine. In addition, SFE inhibited the permeability of evans blue induced by acetic acid and inhibited the writhing syndrome induced by acetic acid. These results indicate that SFE may be useful for the prevention and treatment of allergy related disease.

Key words : *Kamichungbieum*(加味清鼻飲), supercritical fluid extract, compound 48/80, PCA, DNP-IgE, writhing syndrome

### 서론

Gell과 Coombs<sup>1)</sup>는 allergy를 4 가지형으로 분류하였는데, 제 I, II 및 III 형은 항원과 체액성 항체의 상호작용에 기인된 즉 시형반응이며, 제 VI 형은 임파구 표면의 항체 같은 물질과 항원의 반응으로 지연형반응이다. 알러지 반응 중 가장 흔한 제 I 형은 anaphylaxis 형 반응으로 항원이 세포친화성 IgE 항체와 결합하면 가교를 형성하여 IgE 항체의 수용체를 가진 조직 비만세포 또는 혈액 호염기구 내에서 일련의 활성화 반응이 일어나면서 비만세포 또는 호염기구가 탈과립되어 histamine, serotonin 등의 1차성 및 leukotriene류, PAF 등 2차성의 혈관작용성 매개물들이 방출되어 allergy 반응이 유발된다. 제 IV 형은 항체가 반응의 주역이 되는 I III 형의 작용기전과는 달리 주로 감각 T 임파구에 의해 주도되는 반응으로 알려져 있다<sup>2)</sup>. 특히, 알러지성 비염은 호흡 중에 코 속으로 흡입된 특정한 이물질 (화분, 집먼지진드기, 동물의 털 등)에 대해 콧속 점막에서 나타나는 일련의 면역학적 반응으로 알려져 있다<sup>3)</sup>. 알러지성 비염의 서양 의학적 치료가 여러 측면에서 연구 검토되고 있고 또한 그 치료 효과도

현저하게 나타나지만, 그 효과가 일시적이고 치료에 대한 부작용으로 인하여 장기간 투여할 수 없다는 것이 문제점으로 지적되고 있다. 반면, 한방에서는 알레르기성 비염에 대한 치료에 있어 비점막의 염증을 일으키는 항원을 제거하는 것이 아니라, 항원에 반응하는 숙주 (host)의 상태를 변화시키는 형태로 접근한다는 차이점이 있으며, 한의학에서는 코점막의 상태는 대부분 내과적 상황에 의해서 이루어진다고 설명하고 있다.

본 연구에서는 알러지성 비염을 치료하기 위해 한방에서 알러지성 비염에 사용하여 왔던 辛夷膏, 辛夷散, 辛夷清肺飲, 蒼耳子散 등의 처방 중 風寒을 다스리는 辛夷花와 風寒·風濕을 다스리는 蒼耳子, 肺의 熱을 다스리는 黃芩, 風熱을 다스리는 薄荷에 桑葉, 蔓荊子, 魚腥草를 가미하여 加味清鼻飲을 처방하여<sup>4)</sup> 위에 열거한 처방과 임상에서 약효를 비교한 결과 加味清鼻飲의 약효가 가장 우수하였기에 본 실험에서 사용하였다. 현재까지 한방 처방에 따른 한약의 추출은 주로 열탕 추출에 의존해 왔으며, 뜨거운 불에 의한 가열은 한약재 내에서 성분들의 화학적 반응이 쉽게 일어나도록 하는 긍정적인 측면도 많지만, 이로 인해 열에 약한 유효성분의 손실과 원하지 않는 새로운 화학적 반응물의 생성이 일어날 수 있다. 한편, 추출 이론에 따르면 극성 용매 (polar solvent)는 극성 용질 (polar solute)의 추출이 원활하며, 비극성 용매는 비극성 용질의 추출에 적합하다고 알려져 있다.

\* 교신저자 : 은재순, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 약학대학  
· E-mail : jseun@mail.woosuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1569  
· 접수 : 2004/03/12 · 수정 : 2004/04/06 · 채택 : 2004/05/07

한약들은 주로 물로 추출하여 왔기 때문에 물은 극성 용매이므로 한약재의 추출성분들의 대부분은 극성 용질의 성분들로 구성되어 있을 것으로 생각된다. 최근 개발된 추출법의 하나인 초임계유체 추출 (supercritical fluid extraction)은 새로운 분리기술의 하나로써 임계점 이상의 온도와 압력을 가지는 초임계유체를 용매로 사용하여 원하는 물질을 추출하는 기술이다. 초임계유체는 물리화학적 성질이 액체와 기체 사이의 값을 가짐으로써 훌륭한 용매의 조건을 갖추고 있는데, 즉 초임계유체는 밀도가 충분히 높아서 액체에 가깝고, 낮은 점도와 높은 확산도는 기체에 가까운 성질을 보여줌으로써 한약재와 같은 복잡한 구조에서 원하는 물질의 추출에 매우 적합한 기술이라 할 수 있다<sup>5)</sup>.

따라서 본 실험에서는 加味清鼻飲을 초임계유체 추출법을 이용하여 추출물을 얻어 알려지반응에 미치는 영향을 관찰한 결과 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 ICR계 수컷 20 ± 2 g을, 흰쥐는 SD계 수컷 200 ± 10 g을 대한실험동물(주)에서 구입하여, 온도 20 ± 3 °C, 습도 50 ± 5 %, dark/light 12시간의 조건하에서 1 주 이상 실험실에 적응시킨 후 사용하였으며, 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 2. 시약

실험에 사용한 시약은 compound 48/80, platelet activating factor (PAF), anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE antibody, dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA), evans blue 등은 Sigma Co.에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 1급 시약을 사용하였다.

### 3. 검액의 조제

본 실험에 사용한 가미청비음의 구성은 Table 1과 같으며 사용한 약재들은 하나한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였다. 가미청비음 4첩 분량을 초임계유체 추출한 다음 동결건조하여 1.2 g을 얻어 실험에 사용하였다 (이하 supercritical fluid extract (SFE)라 칭함).

Table 1. Prescription of Kamichungbium

韓藥名	生藥名	重量 (g)
魚腥草	Houttuyniae Herba	20
桑 葉	Mori Folium	12
蔓荊子	Vitidis Fructus	12
辛夷花	Magnoliae Flos	8
蒼耳子	Xanthii Fructus	8
薄 荷	Menthae Herba	6
黃 芩	Scutellariae Radix	6
Total		72

### 4. Compound 48/80에 의한 anaphylactic shock

생쥐 1군을 10 마리로 하여 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구 및 복강으로 투여하고 1시간

후에 Compound 48/80 8 mg/kg을 복강 투여한 다음 1 시간 동안 anaphylactic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다. 또한 반복 투여에 의한 영향을 알아보기 위해 sample을 1 일 1 회씩 7 일간 경구 투여한 후 동일한 실험을 실시하여 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다<sup>6)</sup>.

### 5. PAF에 의한 anaphylactic shock

생쥐 1군을 10 마리로 하여 하의 방법<sup>7)</sup>에 의해 실시하였다. 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구 및 복강으로 투여하고 1시간 후에 platelet activating factor (PAF) 25 µg/ml를 0.1 ml씩 꼬리 정맥에 주사한 다음 1 시간 동안 anaphylactic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.

### 6. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 털을 제거한 후, 등에 anti-DNP-IgE 0.5 µg (50 µl)을 피하주사 하였다. 48 시간 후에 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구투여한 다음 1 시간 후에 dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA) 1 mg과 4 % evans blue 용액 1 : 1 혼합액 100 µl를 꼬리정맥에 주사하였다. 30분 후에 청색반점이 나타난 흰쥐의 등 피부부를 박리하여 1N-KOH 1 ml로 24 시간 동안 색소를 추출하였다. 추출액을 5N-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 5 ml로 중화하고 acetone 3 ml를 가하여 2,500 rpm에서 10 분간 원심분리한 후, 상층액을 분리하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>8)</sup>.

### 7. SRBC에 의한 delayed type hypersensitivity (DTH) 반응

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Yoshikai 등<sup>9)</sup>의 방법에 따라 SFE 100 mg/kg을 경구투여하고 2 × 10<sup>7</sup>개의 SRBC 0.03 ml를 마우스 좌측 후 족척 피하에 주사해서 감각시킨 다음 4 일 후에 SFE 100 mg/kg을 경구투여하고 1 시간 후 우측 후 족척 피하에 2 × 10<sup>8</sup>개의 SRBC 0.025 ml를 주사하여 반응을 야기하였다. 야기 직후 (T<sub>0</sub>) 및 야기 24시간 후 (T<sub>24</sub>)에 족척의 두께를 micrometer로 측정하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} - T_0 / T_0) \times 100$$

### 8. Histamine에 의한 급성족 부종 실험

생쥐 8마리를 1군으로 하여, 허 등의 방법<sup>10)</sup>에 따라, 대조군에는 0.9 % 생리식염수만을, 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구 투여 하고, 1시간 후에 좌측족의 두께를 micrometer로 측정하였다. 기염물질로서 histamine- 0.9 % saline (30 µg/20 µl)을 족척 피하에 20 µl/hind paw를 주사하였다. 주사후 15분, 30분, 1, 2, 3 및 4시간 간격으로 족 두께를 측정하여 부종률을 산출하였다.

### 9. Evans blue에 의한 모세혈관 투과성 실험

생쥐 8마리를 1군으로 하여, Whittle의 방법<sup>11)</sup>에 따라, 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구투여 하고, 약물대조군에는 sodium salicylate 300 mg/kg을 경구투여한 다음, 1시간 후에 1 % evans blue 5 ml/kg을 꼬리정맥에 주

사하였다. 주사 후 즉시 0.6 % acetic acid 10 ml/kg을 복강내에 주사하고, 1시간 후에 복강액을 생리식염수 5 ml로 세척하여 회수한 다음, 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 상등액을 620 nm에서 흡광도를 측정하여, 미리 작성한 검량선에 의해 누출된 evans blue의 양을 비색정량 하였다. 병용효과를 관찰하기 위해서 SFE 100 mg/kg을 경구투여하고 30분 후에 sodium salicylate 300 mg/kg을 경구투여한 후 동일한 실험을 실시하였다.

10. Acetic acid에 의한 진통작용 실험

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 acetic acid writhing법<sup>12)</sup>에 따라 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 SFE 100 mg/kg을 경구투여하였고, 약물대조군에는 aminopyrine 100 mg/kg을 경구투여 하였으며, 1 시간 후에 0.7 % acetic acid 10 ml/kg을 복강 내에 주사하고, 10분 후부터 10 분간의 writhing syndrome의 횟수를 측정하였다. SFE와 aminopyrine 병용투여군은 SFE 100 mg/kg을 경구투여하고 30분 후에 aminopyrine 100 mg/kg을 경구투여한 다음 동일한 실험을 실시하였다.

11. 통계처리

모든 실험 결과들은 mean±SE로 나타내었고 통계치리는 student's t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험성적

1. 초임계유체 추출 조건

초임계유체 추출조건을 확정하기 위해 온도를 40 °C로 고정하고 압력을 2000, 3000 및 4000 psi로, 추출 시간을 3, 4, 및 5 시간으로 하여 추출한 추출물을 가지고 임상 실험을 실시한 결과, 온도 40 °C, 압력 4000 psi, 추출 시간 5 시간일 때 약효가 증가되어 추출압력이 높을수록, 추출시간이 길수록 추출조건이 양호하게 나타났다.

2. SFE가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과

대조군은 compound 48/80을 투여시 100 %가 사망하였으며, SFE 100 mg/kg을 1회 경구투여 하였을 때 사망률이 80 %이었으나, 복강투여 하였을 때는 20 %로 대조군에 비해 현저히 감소되었다 (Table 2).

Table 2. Effect of SFE on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice.

Samples	Route	Dose (mg/kg)	Mortality (%)
Control	-	-	100
SFE	p.o.	100	80
SFE	i.p.	100	20

SFE was administered p.o. or i.p. 1 h before compound 48/80 (8 mg/kg, i.p.) injection. The data represents the mortality of 10 mice.

SFE 연속 투여에 의한 작용을 관찰하기 위해, SFE 100 mg/kg을 5일간 경구투여하고 compound 48/80을 주사하고 사망률을 측정한 결과 50 %로, 복강투여 하였을 때는 사망률이 10

%로 현저히 감소되었다 (Table 3).

Table 3. Effect of a repeat administration of SFE on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice.

Samples	Route	Dose (mg/kg)	Mortality (%)
Control	-	-	100
SFE	p.o.	100	50
SFE	i.p.	100	10

SFE was administered p.o. once a day for 7 days and compound 48/80 (8 mg/kg) was injected i.p. The data represents the mortality of 10 mice.

3. SFE가 PAF에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과

대조군은 PAF를 투여시 100 %가 사망하였으며, SFE 100 mg/kg을 1회 경구투여 하였을 때 사망률이 80 %이었으나, 복강 투여 하였을 때는 40 %로 대조군에 비해 감소되었다 (Table 4).

Table 4. Effect of SFE on the anaphylaxis induced by platelet activating factor in mice.

Samples	Route	Dose (mg/kg)	Mortality (%)
Control	-	-	100
SFE	p.o.	100	80
SFE	i.p.	100	40

SFE was administered p.o. or i.p. 1 h before PAF (25 µg/ml i.v.) injection. The data represents the mortality of 10 mice. The data represents the mortality of 10 mice.

4. SFE가 Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응에 미치는 효과

대조군에서 유출된 evans blue의 양은 9.2 ± 0.4 µg/ml이었으나, SFE를 투여한 군은 5.3 ± 0.2 µg/ml로 42.4 % 억제되었다 (Table 5).

Table 5. Effect of SFE on passive cutaneous anaphylaxis induced by anti-DNP-IgE and DNP-HSA in rats.

Samples	Leakage of evans blue (µg/ml)	Inhibition (%)
Control	9.2 ± 0.4	-
SFE	5.3 ± 0.2	42.4

SFE (100 mg/kg) was administered p.o. 48 h after anti-DNP-IgE injection (s.c.). After 1 h, the mixture of dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA) and 4 % evans blue was injected i.v. The data represents the mean ± SE from 5 rats. \*: Significantly different from control group (p<0.001).

5. SRBC에 의한 족척종창반응에 미치는 효과

SRBC 투여 24 시간 경과 후 hind paw의 두께는 대조군에서 1.48 ± 0.02 mm에서 1.69 ± 0.02 mm로 14.2 % 증가되었으나, SFE를 투여한 군은 1.58 ± 0.03 mm로 6.8 % 증가되어 SRBC에 의한 부종을 억제하였다 (Table 6).

Table 6. Effect of SFE on SRBC-induced delayed type hypersensitivity in mice.

Samples	Footpad thickness(mm)		Increase(%)
	T <sub>0</sub>	T <sub>24</sub>	
Control	1.48 ± 0.02	1.69 ± 0.02	14.2
SFE	1.48 ± 0.02	1.58 ± 0.03	6.8

Mice were sensitized with 2 × 10<sup>7</sup> SRBC on 0 day and challenged with 0.03 ml of 2 × 10<sup>8</sup> SRBC on 4 day. SFE (100 mg/kg) was administered p.o. at the indicated day of SRBC-sensitization. Footpad thickness was measured just before challenge (T<sub>0</sub>) and against at 24 hr (T<sub>24</sub>) after challenge, and calculated as following formula: % Increase = [(T<sub>24</sub> - T<sub>0</sub>)/T<sub>0</sub> × 100]. The data[footpad thickness(mm)] represents the mean ± SE from 8 mice. \*: Significantly different from control group (p<0.01).

6. SFE가 histamine에 의한 족척종창반응에 미치는 효과

Histamine 투여 1 시간 경과 후 hind paw의 두께는 대조군

에서  $1.46 \pm 0.02$  mm에서  $1.67 \pm 0.03$  mm로 14.4 % 증가되었으나, SFE를 투여한 군은  $1.52 \pm 0.02$  mm로 4.1 % 증가되어 histamine에 의한 부종을 억제하였다 (Table 7).

**Table 7. Effect of SFE on histamine-induced hind paw edema in mice.**

Samples	Footpad thickness(mm)		Increase(%)
	T <sub>0</sub>	T <sub>24</sub>	T <sub>24</sub>
Control	$1.46 \pm 0.02$	$1.67 \pm 0.03$	14.4
SFE	$1.46 \pm 0.02$	$1.52 \pm 0.02$	4.1

The data represents the mean  $\pm$  SE from 8 mice. \*: Significantly different from control group (p<0.001).

**7. SFE가 모세혈관투과성에 미치는 효과**

대조군에서 유출된 evans blue의 양은  $14.5 \pm 2.1$   $\mu$ g/ml이었으나, SFE를 투여한 군은  $10.2 \pm 1.3$   $\mu$ g/ml로, 대조약물군인 sodium salicylate 100 mg/kg 투여 군은  $10.7 \pm 1.1$   $\mu$ g/ml로, 300 mg/kg 투여군은  $5.4 \pm 1.0$   $\mu$ g/ml로 각각 29.7 %, 26.2 % 및 62.8 % 억제되었다. SFE 100 mg/kg과 sod. salicylate 100 mg/kg을 병용하였을 때는  $10.0 \pm 1.7$   $\mu$ g/ml로 31.0 %, SFE 100 mg/kg과 sod. salicylate 300 mg/kg을 병용하였을 때는  $5.3 \pm 1.0$   $\mu$ g/ml로 63.4 % 억제되었으나, sod. salicylate만 투여한 군에 비해 별 차이가 없었다 (Table 8).

**Table 8. The combined effects of SFE and sod. salicylate on the permeability of evans blue into peritoneal cavity by 0.6 % acetic acid in mice.**

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Leakage of evans blue ( $\mu$ g/ml)	Inhibition (%)
Control	-	$14.5 \pm 1.1$	-
SFE	100	$10.2 \pm 1.3$	29.7
Sod. salicylate	100	$10.7 \pm 1.1$	26.2
Sod. salicylate	300	$5.4 \pm 1.0$	62.8
SFE + Sod. salicylate	100 + 100	$10.0 \pm 1.7$	31.0
SFE + Sod. salicylate	100 + 300	$5.3 \pm 1.0$	63.4

The data represents the mean  $\pm$  SE of 8 mice. \*: Significantly different from control group(p<0.001).

**8. SFE가 진통작용에 미치는 효과**

Acetic acid에 의한 writhing syndrome 횡수는 대조군에서  $22.5 \pm 2.1$ 회이었으나, SFE를 투여한 군은  $11.4 \pm 3.1$ 회로 49.3 %, 대조약물군인 aminopyrine 투여 군은  $8.1 \pm 1.9$ 회로 63.5 %, SFE와 aminopyrine을 병용한 군은  $1.9 \pm 0.5$ 회로 aminopyrine만 투여한군에 비해 유의성 있게 억제되었다 (Table 9).

**Table 9. The combined effects of SFE and aminopyrine on writhing syndrome induced by acetic acid in mice.**

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Writhing syndrome	Inhibition (%)
Control	-	$22.5 \pm 2.1$	-
SFE	100	$11.4 \pm 3.1$ *	49.3
Aminopyrine	100	$8.1 \pm 1.9$ **	63.5
SFE + Aminopyrine	100 + 100	$1.9 \pm 0.5$ #	91.6

The data represents the mean  $\pm$  SE from 8 mice. \*: Significantly different from control group (\*: p<0.01, \*\*: p<0.001). #: Significantly different from aminopyrine-treated group (p<0.001).

**고찰**

일반적으로 초임계유체 추출에서 용매로 사용되고 있는 이산화탄소는 무색, 무취, 무독성, 비폭발성 및 용질과의 무반응성의 성질을 가지고 있어서 한약재의 추출에도 적합하며 전통적인 유기용매 추출법에서 염려되는 잔류용매의 위험성을 없앨 수 있다는 장점이 있다. 또한, 초임계유체 추출은 상대적으로 낮은 온도 (이산화탄소의 임계온도는 30.7  $^{\circ}$ C)에서 공정이 이루어지므로 열에 의해 파괴될 수 있는 성분을 함유하고 있는 한약재를 추출하고자 할 때 유리한 추출법이다.

초임계유체 추출의 장점은 추출 정도, 즉 추출하고자 하는 물질인 용질의 종류 및 양을 추출조건인 온도와 압력의 차이를 이용하여 광범위하게 조절할 수 있다는 것이며, 보조용매 (entrainer)를 사용하면 극성 용질의 추출도 가능하다는 것이다<sup>9)</sup>.

현재 각종의 알레르기질환을 가지고 있는 특이체질이 전 인류의 20 %를 차지하고 있으며<sup>13)</sup>, 최근에 들어 allergy를 위시해서 다양한 원인에 의해 신체의 이상을 호소하는 환자들이 현저하게 증가하고 있기 때문에, 이의 원인을 정확히 규명하여 새로운 치료약을 개발한다는 것은 중요한 의미가 있다고 생각된다. Allergy 환자의 증가 이유는 구체적으로 밝혀지지 않고 있지만 심각한 대기오염이나, 가정의 난방보급으로 인한 집 먼지 속의 진드기증가, 고칼로리, 고지방식의 영향 등 여러 가지 요인<sup>14)</sup>이 지적되고 있다.

그 하나의 원인으로는 allergy 환자의 증가가 섭취 지방에  $\omega$ -3 지방산과  $\omega$ -6 지방산의 비율이 떨어진 데에 있다는 奥山 등의 보고<sup>15)</sup>는 매우 흥미 있는 것이다. 또한 성인에게 발병하는 allergy의 일종인 Bird-egg증후군이라는 병은 침낭이나 새의 깃털이 호흡기를 통해 침입해서 allergy를 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>16)</sup>. 알려지성비염에 대한 한의학적 기전은 肺經에 鬱火나 허한 상태에서 肺가 風寒, 風熱에 감촉되어 나타나게 된다. 본 처방은 肺의 鬱火, 風熱, 風寒의 원인을 제거하여 코점막의 비후, 울혈 상태 및 콧물 코막힘 등의 비염증상을 신속하게 개선시키는 데 치료목표를 두고 있다.

가미청비음을 초임계유체 추출법을 이용하여 추출한 다음 각종 allergy 반응에 대한 실험을 실시하였다. 본 실험에서는 즉시형 알레르기의 지표실험으로서 SFE가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis반응, PAF에 의한 anaphylaxis반응, 지연형 알레르기의 지표실험으로서 SRBC에 의해 유도되는 DTH 반응을 측정하였다. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응은 mast cell로부터 histamine, bradykinin 및 serotonin과 같은 혈관작용성 물질이 유리되어 나타나는 반응으로 알려져 있다<sup>17)</sup>.

Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응을 측정할 결과 SFE를 경구로 투여시에는 사망률이 80 % 이었으나, 복강 투여시에는 사망률이 20 %로 현저히 감소되었다. SFE 반복투여에 의한 결과를 측정하였을 때는 경구 투여시 사망률이 50 % 이었으며, 복강 투여시에는 10 %로 현저히 감소하였다. Platelet activating factor (PAF)는 Benveniste 등<sup>18)</sup>에 의하여 IgE로 감작된 토끼의 호흡기에서 1980년에 처음으로 분리된 이후 제 I형 과민반응

및 염증반응의 강력한 mediator임이 확인되었으며, 혈소판뿐만 아니라 호중구, 호산구, macrophage, 혈관내피세포 등 각종 세포에서 분비되고 있음이 밝혀졌으며<sup>19)</sup>, 이를 동물에 주사하면 IgE 중개성 anaphylaxis와 같은 증상이 발현됨이 증명되었다<sup>20)</sup>.

PAF에 의한 anaphylaxis 반응을 측정할 결과 SFE를 경구로 투여시에는 사망률이 80 %이었으나, 복강 투여시에는 사망률이 40 %로 현저히 감소되었다. 이는 SFE가 즉시형 알레르기 반응을 억제하는 효과가 있으며, 경구 투여시 위장관에서 흡수가 불량함을 시사하는 결과라 할 수 있다. SRBC에 의한 지연형 알레르기 반응을 측정할 결과 foodpad thickness가 대조군에 비해 현저히 감소되었다.

이는 SFE가 지연형 알레르기 반응을 억제하는 효과가 있음을 의미하는 결과이다. 이러한 실험결과를 요약하면 SFE가 즉시형 및 지연형 알레르기 모두에 효과가 있음을 시사하는 것이다. PCA반응은 즉시형 과민반응에 세포친화성 항체가 관여하고 있는 것을 관찰하는 실험으로 1차 항원 (anti-DNP-IgE)을 마우스 피하에 주사한 후, 2차 항원 (DNP-HSA)을 evans blue와 함께 혼합하여 정맥주사 하면 mast cell의 고친화성 IgE 수용체 (FcεRI)를 경유하여 mast cell의 활성화가 일어난다.

Mast cell이 활성화되면 세포질 내의 Ca<sup>2+</sup> 농도가 상승하여 탈과립이 일어나 histamine 등의 mediator가 유리되어 모세혈관 투과성이 증가하여 evans blue에 의한 청색반점으로 나타난다<sup>9)</sup>. SFE를 투여하였을 때 유출되는 evans blue의 색소량은 대조군에 비해 42.4 % 감소되어, SFE가 PCA 반응을 억제하였다. 이 결과는 SFE가 mast cell의 활성화를 억제하고 있음을 시사하는 것이다.

Histamine에 의해 유도되는 hind paw edema를 측정할 결과 대조군에 비해 SFE 투여시 현저히 감소되었다. 이는 SFE가 histamine receptor를 차단하는 작용이 있음을 의미하는 것이다. Histamine이 유리되면 모세혈관투과성이 항진된다. 이를 확인하기 위해 acetic acid에 의한 모세혈관투과성 실험을 실시한 결과, 모세혈관투과성이 SFE 100 mg/kg 및 sodium salicylate 100 mg/kg 투여시 대조군과 별 차이가 없었으나, sodium salicylate 300 mg/kg 투여시에는 대조군에 비해 62.8 %로 대조군에 비해 현저히 감소되었다. SFE 100 mg/kg과 sodium salicylate 100 mg/kg 병용투여시에는 대조군과 별 차이가 없었으나, SFE 100 mg/kg과 sodium salicylate 300 mg/kg 병용투여시에는 대조군에 비해 63.4 %로 감소하였다. 이는 SFE가 모세혈관투과성을 억제하는 작용이 없음을 의미하는 결과이다.

이러한 결과가 앞의 실험에서 SFE가 histamine 방출을 억제할 결과가 아닌가 추정되나 자세한 기전은 추후 연구되어야 할 것이다. Histamine에 의한 부종을 SFE가 억제하였기 때문에 acetic acid에 의한 writhing syndrome의 횡수를 측정하여 진통작용을 관찰하였다. Writhing syndrome의 횡수가 SFE 100 mg/kg 및 aminopyrine 100 mg/kg 투여시 대조군에 비해 현저히 감소되었으며 SFE와 aminopyrine을 병용 투여시 aminopyrine만을 투여한 군에 비해 진통작용이 현저히 증강되었다. 이는 SFE가 진통작용을 가지고 있음을 의미하는 것이다.

## 결 론

가미청비음 초임계유체 추출물 (SFE)의 allergy에 대한 영향을 관찰한 결과는 다음과 같다. 초임계유체 추출 조건은 온도 40 ℃, 압력 4,000 psi, 추출시간 5 시간일 때가 가장 좋은 추출조건을 나타내었다. SFE는 compound 48/80 및 PAF에 의한 즉시형 알레르기 반응 및 SRBC에 의한 지연형 알레르기 반응을 억제하였다. SFE는 anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응을 억제하였다. SFE는 histamine에 의한 hind paw edema를 억제하였다. SFE는 모세혈관투과성 억제작용이 없었으며, SFE와 sodium salicylate 병용시 작용이 증강되지 않았다. SFE와 aminopyrine은 acetic acid에 의한 writhing syndrome을 억제하였으며, SFE와 aminopyrine 병용시 작용이 증강되었다. 이상의 실험결과 SFE는 histamine 수용체를 차단하여 즉시형 및 지연형 알러지를 억제하며, 진통작용이 강력하여 allergy 질환에 효과가 있는 탕제라 사료된다.

## 감사의 글

본 논문은 2003년도 보건복지부 한약과 양약의 복합투여시 안전성·유효성 연구사업비의 일부로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Coombs, R.R.A. and Gell, P.G.H.: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Clinical Aspects of Immunology, 3rd ed. Blackwell Scientific, Oxford, p.761, 1975.
2. IFT Expert Panel on Food Safety and Nutrition: Food Technol., 39(9), 65, 1985.
3. Mackaness, G.B.: Delayed hypersensitivity and the mechanism of cellular resistance to infection. In: Progress in Immunology, edited by B. Amos, Academic press, New York, p.13, 1971.
4. 蔡炳允: 東醫眼耳鼻咽喉科學(增補版), 集文堂. pp. 661-668, 1997.
5. Leiner, S.: Dense Gases for Extraction and Refining. (Stahl, E., Quirin, K.W., and Gerald, D., Eds), Springer-Verlag, New York, NY, USA, pp.101-105, 1986.
6. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced excretion of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. Prod. Natl. Acad. Sci., 71, 408, 1974.
7. Ha, T.Y., Park, Y.M. and Rhew, H.Y.: Effect of platelet activating factor on fatal active systemic anaphylaxis. Kor. J. Immunology, 12(2), 145, 1990.
8. Katayama, S., Shionoya, H. and Ohtake, S.: A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence

- of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiology and Immunology*, 22, 89, 1978.
9. Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K.: Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. *Immunology*, 38, 577, 1979.
  10. Huh, I.H., Lee, S.J. and Kim, H.C.: Studies on the anti-inflammatory activity and its mechanism of daidzein. *Yahak Hoeji*, 31(3), 154-163, 1987.
  11. Whittle, B.A.: *Brit. J. Pharmacol.*, 22, 246, 1964.
  12. Shimomura, K.: *J. Pharm. Jpn.*, 24, 837, 1972.
  13. Middleton, E. Jr. and Reed, C.E.: *Allergy, principles and practice*, 3rd ed., Mosby Co., St. louis, Missouri p.118, 1988.
  14. Gaddie, J., Skinner, C. and Palmer, K.N.V.: Hypo-sensitization with house dust mite in bronchial asthma. *Brit. Med. J.*, 2, 581, 1976.
  15. 奥山治美, 坂井恵子, 森内敦子: *食品衛生學會誌*, 30, 1, 1989.
  16. Mandallaz, M.M., deWeck, A.L. and Dahinden, C.A.: *J. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 87, 143, 1988.
  17. Amir, S. and Englis, 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.
  18. Benveniste, J., Henson, P.M. and Cochrane, C.G.: leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelet. The role of IgE, basophil and a platelet-activating factor. *J. Exp. Med.*, 136, 1356, 1972.
  19. Fitzgerald, M.F., Moncada, S. and Parente, L.: The anaphylaxis release of platelet activating factor from perfused guinea-pig lungs. *Br. J. Pharmacol.*, 88, 149, 1986.
  20. Darius, H., Lefer, D.J. and Smith, J.B.: Role of platelet-activating factor in mediating guinea pig anaphylaxis. *Science*, 232, 58, 1986.