

加味荊防地黃湯이 즉시형 알러지반응에 미치는 영향

김광식 · 이동희 · 고대웅 · 송정모¹ · 은재순*

우석대학교 약화대학, 1: 우석대학교 한의과대학

Effect of Kamihyungbangjihwang-tang on Immediate-type Allergic Reaction

Kwang Sik Kim, Dong Hee Lee, Dae Woong Ko, Jung Mo Song¹, Jae Soon Eun*

College of Pharmacy, 1: College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effects of Kamihyungbangjihwang-tang (KHT) on immediate-type allergic reaction. KHT was composed of hyungbangjihwangtang (HJT) and *Rubus coreanus* Miquel (RC) and *Aspalathus linearis* (AL). KHT and HJT (500 mg/kg) inhibited the systemic anaphylaxis induced by compound 48/80 and inhibited the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) induced by anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE and DNP-human serum albumin (HSA) in vivo. In addition, KHT, HJT, RC and AL inhibited the release of histamine and increased the release of cAMP from rat peritoneal mast cells. The anti-allergic action of KHT was more potent than those of HJT. These results indicate that KHT may be useful for the prevention and treatment of type I allergy related disease via inhibition of histamine release from mast cells.

Key words : Kamihyungbangjihwang-tang(加味荊防地黃湯), *Rubus coreanus* Miquel, *Aspalathus linearis*, mast cell, histamine, cAMP

서 론

형방지황탕은 숙지황, 산수유, 복령, 택사, 차전자, 강활, 독활, 형개 및 방풍으로 구성된 처방으로 少陽人의 表病證 身寒腹痛泄瀉 亡陰證과 喘促, 結胸, 痢疾, 寒熱往來 등에 응용되고 있는 처방이다^{1,2)}. 복분자 (*Rubus coreanus* Miquel)는 장미과 (Rosaceae)에 속하는 우리나라 중부 이남의 산기슭 양지에 자라는 낙엽관목으로 갈고리 모양의 가시가 있는 것이 특징이다. 한 방에서는 복분자딸기 나무의 덜 익은 열매, 즉 미숙과를 복분자라고 하며 補肝腎, 明目, 이뇨제의 효능이 있고, 정력감퇴, 유정, 빈뇨를 치료한다고 알려져 있으며 그 사용법으로는 미숙과를 물에 넣고 달여서 복용하거나 술에 담가 복용한다³⁾. 일본의 경우 복분자와 유사한 품종을 70 여종으로 분류하고 있으며, 유럽과 미국 등에서도 *Rubus* 속 식물의 열매를 raspberry류로 통칭하며, red raspberry, purple raspberry 및 black raspberry류로 대별한다. 주로 우리나라에서 사용하고 있는 것은 black raspberry로 알려져 있다⁴⁾. 복분자에 함유된 성분은 phenol성 화합물⁵⁾,

tannin 화합물⁶⁾ 및 terpenoids 화합물^{7,8)} 등이 확인, 동정되었으며, 생리활성은 항산화작용^{9,11)}, 항암작용^{12,13)} 및 항알러지작용¹⁴⁾ 등이 보고되었다.

Rooibos tea (*Aspalathus linearis*)는 콩과 식물의 일종으로 남아프리카 케이프타운 북서쪽 산맥 일대에서 자생하는 식물로써, 다른 차에 비해 카페인이나 전혀 함유되어 있지 않고, tannin과 catechin이 아주 미량 함유되어 있으며, flavonols, flavones, chalcones과 hydroxylated fatty acid와 같은 phenol성 화합물이 다량 함유되어 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. Rooibos tea는 항산화작용 및 superoxide anion 제거작용이 있어 잎과 줄기를 차로 사용하고 있다¹⁹⁻²²⁾. 또한 Rooibos tea는 antimutagenic effect²³⁾, antihemolytic effect²⁴⁾, anti-HIV activity²⁵⁾, radioprotective effect²⁶⁾, antiallergic effect²⁷⁾ 등 다양한 약리작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

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 leukotriene 류, PAF 등 2차성의 혈관작용성 매개물들이 방출되어 allergy 반

* 교신저자 : 은재순, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 약화대학
· E-mail : jseun@woosuk.ac.kr · Tel : 063-290-1569
· 접수 : 2003/07/24 · 수정 : 2003/08/28 · 채택 : 2003/10/06

응이 유발된다²⁸⁾. Allergy 질환들은 그 발병 원인에 따라 치료가 잘되는 것도 있지만, 치료가 잘되지 않는 atopy성 피부 질환과 같은 난치성 질환도 있다. Atopy 치료의 일차적인 목표는 가려움증 및 피부염의 완화이다. 가려움증은 생체가 어떠한 자극을 받게 되면 mast cell로부터 histamine을 유리하여 나타나는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 실험에서는 mast cell로부터 histamine 유리를 억제하여 피부 가려움증을 억제할 수 있는 약물을 개발하고자, mast cell로부터 histamine 유리를 억제하는 것으로 보고된 항방지황탕²⁹⁾에 이미 항알러지작용이 있다고 보고된 복분자와 루이보스티를 가미하여 가미항방지황탕을 조제하여 즉시형 allergy에 대한 작용을 관찰한 결과 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 BALB/c계 수컷 20±2 g을, rat는 SD계 수컷 250±20 g을 대한실험동물(주)에서 구입하여, 온도 20±3 °C, 습도 50±5%, dark/light 12시간의 조건하에서 1주일 이상 실험실에 적응시킨 후 사용하였으며, 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 시약 및 기구

실험에 사용한 시약은 compound 48/80, anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE antibody, dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA), metrizamide, histamine N-methyl transferase는 Sigma Co., fetal bovine serum (FBS)은 Gibco Co., S-adenosyl (methyl-¹⁴C) methionine, cAMP kit는 Amersham Co.에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 특급 및 1급 시약을 사용하였다.

3. 검액의 조제

본 실험에 사용한 항방지황탕의 구성은 東醫壽世保元³⁰⁾에 준하여, 熟地黃, 山茱萸, 白茯苓, 澤瀉 각 8g, 車前子, 羌活, 獨活, 荊芥, 防風 각 4g이었으며, 사용한 약재들은 우석대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고, 가미항방지황탕은 항방지황탕에 Rubus coreanus (覆盆子) 16g, Aspalathus linearis (루이보스티) 16g을 시판하고 있는 것을 구입하여 가미하였다. 처방 2첩 분량을 증류수 2,000 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과하여 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결 건조하여 분말을 얻어, 동물실험 시에는 생리식염수에 용해시켜 사용하였다. 각 구성 약재의 추출도 동일한 방법으로 실시하였으며, 수득율은 아래와 같다.

Table 1. Composition of Kamihyungbangjihwang-tang

韓藥名	수득율(%)
加味荊防地黃湯 (KHT)	29.9
荊防地黃湯 (HJT)	32.3
Rubus coreanus (RC)	5.3
Aspalathus linearis (AL)	10.2

4. Compound 48/80에 의한 anaphylatic shock

생쥐 (ICR계) 1군을 10 마리로 하여 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 KHT 및 HJT 각 500 mg/kg을 경구 또는 복강으로 1회 투여하고, 1 시간 후에 Compound 48/80 8 mg/kg을 복강투여한 다음 1 시간 동안 anaphylatic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다³¹⁾. 또한 반복투여에 의한 KHT 및 HJT의 영향을 알아보기 위해, 각 500 mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여한 후 동일한 실험을 실시하여 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.

5. 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 생리식염수를, 실험군에는 KHT 및 HJT 각 500 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 피부를 박리하여 1N-KOH 1 ml로 24 시간 동안 색소를 추출하였다. 추출액을 5N-H₃PO₄ 5 ml로 중화하고 acetone 3 ml를 가하여 2,500 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다³²⁾.

6. 복강 mast cell의 분리

Kanemoto 등³³⁾의 방법에 준하여 흰쥐 복강 mast cell을 분리하였다. 흰쥐를 ether로 마취시킨 후 실온에서 PMC buffer (PBS 100 ml, FBS 10 ml, Heparin 10,000 unit 1 ml)에 3차 증류수를 가해 1,000 ml로 조제, pH 7.0) 30 ml를 복강에 주입하고 90 초간 복벽을 가볍게 마사지한 다음 복강액을 채취하여 원심분리 (1,500 rpm, 5 분)하였다. 15 ml tube에 22.5% metrizamide (4 °C) 2 ml를 넣고 Yurt 등의 방법³⁴⁾에 따라 그 위에 DME 배지로 희석한 세포부양액을 서서히 가하고 1,300 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 세포를 DME 배지로 세척한 후 2 × 10⁵ cells/ml로 조제하여 실험에 사용하였다.

7. 세포배양액 분리

세포배양액은 분리한 mast cell을 2 × 10⁵ cells/ml로 조제하여 eppendorf tube에 1 ml씩 넣고, CO₂-incubator에서 10분간 배양한 후 PMC buffer로 희석한 KHT를 최종농도가 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml로 되도록 각각 가하고 37 °C에서 10분간 배양한 다음 compound 48/80 0.5 µg/ml를 가하여 10 분간 배양하였다. 배양액을 1,500 rpm으로 10 분간 (4 °C) 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 단일 약재를 실험할 때는 최종농도를 2.5 mg/ml로 고정하여 동일한 실험을 실시하였다.

#; PMC buffer: 10×PBS 100 ml + FBS 10 ml + heparin (10,000 unit, 1 ml) + 3차 증류수 = 1,000 ml (pH 7.0)

8. Histamine 정량

분리한 세포배양액 중의 histamine의 정량은 Harvima 등³⁵⁾

의 방법을 수정하여 측정하였다. 원심후 상층액 10 μ l와 S-adenosyl (methyl-¹⁴C) methionine (2 μ ci/ml) 1.5 μ l, 300 mM Tris-glycine buffer (pH 8.3) 40 μ l, histamine N-methyl transferase 5 μ l를 첨가하여 37 °C 항온조에서 90분간 반응시킨 후 3N-perchloric acid 20 μ l를 가하여 반응을 중지시켰다. Perchloric acid를 중화시키기 위해 10N-NaOH 20 μ l를 가하고, toluene-isoamyl alcohol 1 ml로 추출한 후 상층액 700 μ l를 얻어 cocktail 용액으로 scintillation 시킨 다음, β -counter를 사용하여 CPM (counter per minute) 값을 측정한 후 histamine 표준곡선에 의해 양을 측정하였다. Histamine양은 histamine 총량에 대한 백분율로 표시하였으며, 총 histamine양은 mast cell수가 2 \times 10⁵ cells/ml인 250 μ l를 100 °C로 10분간 가열한 다음 원심하여 얻은 상층액으로부터 측정된 histamine양을 100으로 정하였다.

$$\text{Histamine유리율(\%)} = (\text{실험군 histamine 유리량} \div \text{총 histamine 유리량}) \times 100$$

9. cAMP 정량

세포내 cAMP의 농도는 Peachell 등의 방법³⁶⁾에 준하여 실험하였다. 분리한 mast cell를 Tyrode buffer A에 부유시켜 2 \times 10⁵ cells/ml로 조제한 후 각 sample 1.0 mg/ml를 넣고 CO₂ incubator에서 60초 동안 배양하였다. 배양 후 염산-에탄올 (86% ethyl alcohol 0.9 ml : 1M HCl = 99 : 1)을 넣어 반응을 정지시킨 다음 400 \times g로 4 °C에서 5분간 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 상층액 0.9 ml를 취하여 감압건조시킨 후 assay buffer 200 μ l를 넣어 용해시켜 cAMP kit를 이용하여 측정하였다.

#; Tyrode buffer A: 10 mM HEPES + 130 mM NaCl + 5.0 mM KCl + 1.4 mM CaCl₂ + 1.0 mM MgCl₂ + 5.6 mM glucose + 0.1% bovine serum albumin

10. 통계처리

모든 실험 결과들은 Mean \pm SE로 나타내었고 통계처리는 student t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험성적

1. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과

대조군은 compound 48/80을 투여시 100%가 사망하였으며, KHT 500 mg/kg을 1회 경구투여 하였을 때 사망률이 50%이었으나, HJT 500 mg/kg을 경구투여 하였을 때는 사망률이 90%이었으며, KHT를 복강 투여하였을 때는 사망률이 10%로 HJT를 복강 투여하였을 때는 사망률이 30%로 대조군에 비해 현저히 감소되었다 (Table 2).

한방제제들은 경구투여를 하기 때문에 KHT 연속 투여에 의한 작용을 관찰하기 위해, KHT 500 mg/kg을 7일간 경구투여하고 compound 48/80을 주사하고 사망률을 측정한 결과 20%, HJT를 투여하였을 때는 사망률이 50%이었으나, KHT 및 HJT 500 mg/kg을 7일간 복강투여 하였을 때는 사망률이 0%로 대조군에 비해 현저히 감소되었다 (Table 3).

Table 2. Effect of a single administration of Kamihyungbangjihwang-tang and Hyungbangjihwangtang on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	p.o.	100
KHT	500	p.o.	50
HJT	500	p.o.	90
KHT	500	i.p.	10
HJT	500	i.p.	30

KHT or HJT (500 mg/kg) was administered 1 h before compound 48/80 (8 mg/kg, i.p.) injection. The data represents the mortality of 10 mice.

Table 3. Effect of repeated administration of KHT and HJT on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	p.o.	100
KHT	500	p.o.	20
HJT	500	p.o.	50
KHT	500	i.p.	0
HJT	500	i.p.	0

KHT or HJT (500 mg/kg) was administered 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.

2. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응에 미치는 효과

대조군에서 유출된 evans blue의 양은 12.3 \pm 1.5 μ g/ml이었으나, KHT를 투여한 군은 6.2 \pm 0.5 μ g/ml로 49.6% 억제되었으며, HJT를 투여한 군은 8.5 \pm 0.4 μ g/ml로 30.9% 억제되었다 (Table 4).

Table 4. Effect of KHT and HJT on passive cutaneous anaphylaxis induced by anti-DNP-IgE and DNP-HSA in rats

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Leakage of evans blue (μ g/ml)	Inhibition (%)
Control	Saline	12.3 \pm 1.5	-
KHT	500	6.2 \pm 0.5**	49.6
HJT	500	8.5 \pm 0.4*	30.9

KHT (500 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 \pm SE from 5 rats. *: Significantly different from control group (*: p<0.01, **: p<0.001).

3. Compound 48/80에 의한 복강 mast cell로부터 histamine 유리에 미치는 효과

Mast cell에 compound 48/80 0.5 μ g/ml를 가했을 때 방출되는 histamine양은 49.8 \pm 2.7%이었으나, KHT 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때는 30.2 \pm 2.9%, 18.5 \pm 2.5% 및 5.4 \pm 0.3%로, HJT 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때는 35.2 \pm 3.7%, 23.5 \pm 3.4% 및 9.3 \pm 0.7%로 용량의존적으로 복강 mast cell로부터 histamine의 방출을 억제하였다 (Fig. 1). RC 및 AL 각 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때 방출되는 histamine 양은 6.8 \pm 0.5% 및 4.7 \pm 0.3%로 AL의 억제율이 제일 강력하였다 (Fig. 2).

4. Mast cell로부터 cAMP 함량에 미치는 효과

분리한 mast cell에 각 sample 1.0 mg/ml를 가하고 60초 후에 cAMP의 농도를 측정한 결과, compound 48/80을 처리하지 않은 normal군은 0.52 \pm 0.04 p mol이었으나, compound 48/80을 처리한 control군은 0.25 \pm 0.03 p mol로 감소되었으며,

compound 48/80을 처리하고 KHT를 처리한 군은 1.98 ± 0.19 p mol로, HJT를 처리한 군은 1.14 ± 0.12 p mol로, RC를 처리한 군은 2.05 ± 0.15 p mol로, AL을 처리한 군은 2.48 ± 0.18 p mol로 control군에 비해 cAMP의 함량이 증가되었다 (Table 5).

Table 5. Effect of KHT, HJT, Rubus coreanus Miquel (RC) and Aspalathus linearis (AL) on compound 48/80-induced cAMP content in rat peritoneal mast cells in vitro

Samples	cAMP content (p mol)
Normal	0.52 ± 0.04
Control	$0.25 \pm 0.03^*$
KHT	$1.98 \pm 0.19^*$
HJT	$1.14 \pm 0.12^*$
RC	$2.05 \pm 0.15^*$
AL	$2.48 \pm 0.18^*$

The mast cells (2×10^6 cells/ml) were pre-incubated with KHT, HJT, RC or AL for 60 sec. at 37 °C, respectively. The data represents the mean \pm SE from 3 experiments. The control group was treated with compound 48/80 at the concentration of 5 μ g/ml. *: Significantly different from normal group ($p < 0.001$). **: Significantly different from control group ($p < 0.001$).

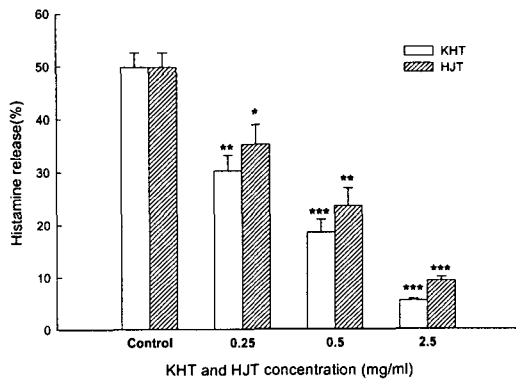


Fig. 1. Effect of KHT and HJT on histamine release induced by compound 48/80 from rat peritoneal mast cells in vitro. Various concentration of KHT and HJT (0.25, 0.5 and 2.5 mg/ml) were added into the rat peritoneal mast cells 10 min, before compound 48/80 (0.5 μ g/ml) treated. The data represents the mean \pm SE from 3 experiments. *: Significantly different from control group (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$).

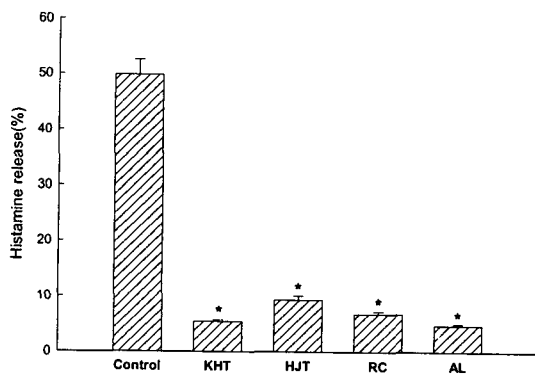


Fig. 2. Effect of KHT, HJT, RC and AL on histamine release induced by compound 48/80 from rat peritoneal mast cells in vitro. The crude drugs (2.5 mg/ml) were added into the rat peritoneal mast cells 10 min, before compound 48/80 (0.5 μ g/ml) treated. The data represents the mean \pm SE from 3 experiments. *: Significantly different from control group ($p < 0.001$).

고찰

현재 각종의 알레르기질환을 가지고 있는 특이체질이 전 인류의 20%를 차지하고 있으며, 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.

제 I 형 allergy는 IgE 항체와 mast cell에 의해 유발되며, 피부, 점막 등에서 국소성 또는 전신성으로 상해가 나타난다. 본 실험에서는 제 I 형 알레르기의 지표실험으로서 KHT 및 HJT가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응, 수동 피부 anaphylaxis 반응 (PCA 반응), compound 48/80에 의한 histamine 유리에 대한 실험을 실시하였다. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응은 mast cell로부터 histamine, bradykinin 및 serotonin과 같은 혈관작용성 물질이 유리되어 나타나는 반응으로 알려져 있다³⁷⁾. KHT 및 HJT를 경구 또는 복강으로 500 mg/kg을 1회 투여하고 compound 48/80을 주사하였을 때 anaphylaxis에 의해 치사되는 치사율은 경구투여 하였을 때 50 및 90%로, 복강투여 하였을 때 10 및 30%로 감소하였다. KHT가 HJT 보다 치사율을 현저히 저하시켰다. 반복투여에 의한 영향을 관찰하기 위해 KHT 500 mg/kg을 경구 및 복강으로 7 일간 투여하였을 때 치사율은 경구투여하였을 때 20% 및 50%로, 복강투여하였을 때 0%로 대조군에 비해 현저히 감소하였으며, KHT가 HJT 보다 치사율을 강력히 저하시켰다. 이러한 결과는 KHT 및 HJT는 histamine 및 IgE에 의해 유도되는 즉시형 과민반응을 억제할 수 있음을 시사하는 것이며, RC와 AL를 가미한 KHT가 HJT 보다 작용이 강력함을 의미하는 것이다. PCA반응은 즉시형 과민반응에 세포친화성 항체가 관여하고 있는 것을 관찰하는 실험으로 1차 항원 (anti-DNP-IgE)을 마우스 피부에 주사한 후, 2차 항원 (DNP-HSA)을 evans blue와 함께 혼합하여 정맥주사 하면 mast cell의 고친화성 IgE 수용체 ($Fc \epsilon R1$)를 경유하여 mast cell의 활성화가 일어난다. Mast cell이 활성화되면 세포질 내의 Ca^{2+} 농도가 상승하여 탈과립이 일어나 histamine 등의 mediator가 유리되어 모세혈관 투과성이 증가하여 evans blue에 의한 청색반점으로 나타난다³⁸⁾. KHT 및 HJT를 각각 투여하였을 때 유출되는 evans blue의 색소량은 대조군에 비해 49.6% 및 30.9% 감소되었다. 이 결과는 KHT 및 HJT가 mast cell의 활성화를 억제하고 있음을 시사하는 것이며, KHT의 작용이 HJT 보다 강력함을 시사하는 것이다. Compound 48/80에 의해 mast cell은 탈과립 되어 histamine이 유리된다. KHT 및 HJT 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml를 각각 전처리하고 compound 48/80을 처리하였을 때 용량 의존적으로 histamine의 유리가 억제되었으며, 이 때에도 KHT가 HJT 보다 작용이 강력하였다. KHT에 함유된 RC 및 AL의 histamine 유리 억제작용을 관찰한 결과 KHT 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때는 $5.4 \pm 0.3\%$ 로, HJT 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때는 $9.3 \pm 0.7\%$ 로 복강 mast cell로부터 histamine의 방출을 억제하였으며, RC 및 AL 각 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때 방출되는 histamine 양은 $6.8 \pm 0.5\%$ 및 $4.7 \pm 0.3\%$ 로 AL이

histamine 유리를 제일 강력하게 억제하였다. Histamine의 방출은 adenylate cyclase의 활성 및 cAMP phosphodiesterase의 억제에 의해 세포내 cAMP 농도가 증가하면 억제되는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. Compound 48/80을 처리하지 않은 normal군의 cAMP 농도는 0.52 ± 0.04 p mol 이었으나, compound 48/80을 처리한 control군은 cAMP 농도는 0.25 ± 0.03 p mol로 cAMP의 농도가 감소하였다. 이는 compound 48/80이 세포내 cAMP 농도를 감소시켜 histamine의 방출을 촉진하고 있음을 시사하는 결과이다. KHT를 처리한군에서 cAMP의 농도는 1.98 ± 0.19 p mol로 control군에 비해 7.9 배, HJT를 처리한 군은 1.14 ± 0.12 p mol로 control군에 비해 4.6 배, RC를 처리한 군은 2.05 ± 0.15 p mol로 control군에 비해 8.2 배, AL을 처리한 군은 2.48 ± 0.18 p mol로 control군에 비해 9.9 배로 KHT, HJT, HJT, RC 및 AL 처리군 모두에서 cAMP의 함량이 증가되었다 (Table 5). 이 결과는 RC가 mast cell의 cAMP 농도를 증가시켰다는 Kim⁴⁰⁾의 결과와도 동일한 결과이며, RC 및 AL이 KHT에 함유되어 있기 때문에 HJT 보다 작용이 강력한 것이 아닌가 추정된다. 이상의 실험결과는 KHT 및 HJT가 mast cell의 cAMP 농도를 증가시켜 histamine의 유리를 억제함으로써 즉시형 과민반응, 즉 제 I 형 allergy 반응을 억제할 수 있는 약물임을 시사하는 것이다. KHT는 경구 및 복강 투여하였을 때 모두 즉시형 알러지반응을 억제하였으나, HJT은 주로 복강 투여하였을 때 알러지반응을 억제하였다는 것은 알러지에 HJT 보다는 KHT를 투여하는 것이 바람직하다고 사료되나 한방제제의 작용을 단순히 작용의 강약에 따라 구분한다는 것은 어렵기 때문에 다양한 실험들이 더욱 진행되어야 할 것이다.

결 론

형방지황탕에 복분자 및 루이보스티를 가미한 가미형방지황탕은 비만세포의 cAMP 농도를 증가시켜 histamine의 유리를 억제함으로써 IgE에 의해 매개되는 제 I 형인 즉시형 알러지반응을 억제하였으며, 형방지황탕보다 작용이 강력하였다.

감사의 글

본 논문은 우석대학교 한방재활연구소사업비 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 全國韓醫科大學 四象醫學教室: 四象醫學, 서울, 집문당, p.47-48, 1997.
2. 홍순용, 이을호: 四象醫學原論, 서울, 행림출판, pp.256-257, 1992.
3. Bae, G.H.: The Medicinal Plants of Korea. Kyohak Publishing Co., p.231, 2000.
4. Cha, H.S., Lee, M.K., Hwang, J.B., Park, M.S. and Park,

- K.M.: Physicochemical characteristics of *Rubus coreanus* Miquel. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 30(6), 1021-1025, 2001.
5. Kim, M.S.: Phenolic compounds from the leaves of *Rubus coreanus*. M.S. Thesis, Chung-Ang Univ., Seoul, 1996.
6. Bang, G.C.: Tannins from the fruits of *Rubus coreanus*. M.S. Thesis, Chung-Ang Univ. Seoul, 1996.
7. Kim, Y.H.: Triterpenoids from *Rubus fructus* (Bogbunja). Arch. Pharm. Res., 16, 109-113, 1993.
8. Gao, F.: 19 α -hydroxyursane-type triterpene glucosyl esters from the roots of *Rubus suavissimis*. Chem. Pharm. Bull., 33, 37-41, 1985.
9. Costantino, L., Albasini, A., Rasteli, G. and Benvenuti, S.: Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. Planta Med., 58, 342-345, 1992.
10. Cha, H.S., Park, M.S. and Park, K.M.: Physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel. Korean J. Food Sci. Technol., 33(4), 409-415, 2001.
11. Heinonen, L.M., Meyer, A.S. and Frankel, E.N.: Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. J. Agric. Food Chem., 46(10), 4107-4112, 1998.
12. Daniel, E.M., Krupnick, A.S., Heru, Y.H., Blinzler, J.A., Nims, R.W. and Storner, G.D.: Extraction, stability, and quantitation of ellagic acid in various fruits and nuts. J. Food Compos. Anal., 2, 338-349, 1989.
13. De Ancos, B., Gonzalez, E.M. and Cano, M.P.: Ellagic acid, vitamin C and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. J. Agric. Food Chem., 48(10), 4565-4570, 2000.
14. Shin, T.Y., Kim, S.H., Lee, E.S., Eom, D.O. and Kim, H.M.: Action of *Rubus coreanus* extract on systemic and local anaphylaxis. Phytother. Res., 16, 508-513, 2002.
15. Won, K. S., Lee, T. W., Eun, J. S. and Song, J. M.: Effect of *Rubus coreanus* Miquel on the Specific Immune Response in Mice. Kor. J. Oriental Phys. & Pathol. 17(1), in press, 2003.
16. Rabe, C., Steenkamp, J.A., Joubert, E., Burger, J.F.W. and Ferreira, D.: Phenolic metabolites from Rooibos tea (*Aspalathus linearis*). Phytochemistry, 35(6), 1559-1565, 1994.
17. Morton, J.F.: Econ. Bot., 37, 164, 1983.
18. Komatsu, K., Kator, K., Mitsuda, Y., Mine, M. and Okumura, Y.: Inhibitory effects of Rooibos tea, *Aspalathus linearis*, on X-ray induced C3H10T1/2 cell transformation. Cancer Lett., 77, 33-38, 1994.

19. Yang, C.S. and Wang, Z.Y.: Tea and cancer. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 85, 1038-1049, 1993.
20. Yoshikawa, T., Naito, Y., Oyamada, H., Ueda, S., Tanigawa, T., Takemura, T., Sugino, S. and Kondo, M.: Scavenging effects of *Aspalathus linearis* (Rooibos tea) on active oxygen species. *Exp. Med. Biol.*, 264, 171-174, 1990.
21. Nakano, M. and Mizuno, T.: Age-related changes in neurotransmitter metabolism in rat striatum: a brain microdialysis study. *Recent advances in aging science. Bologna, Monduzzi Editore*, 351-355, 1993.
22. Hitomi, E., Tamura, S., Tsurumoto, Y., Tsuda, T. and Nakano, M.: Antioxidant activity of rooibos tea (*Aspalathus linearis*). *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 46(12), 779-785, 1999.
23. Standley, L., Winterton, P., Marnewick, J.L., Gelderblom, W.C., Joubert, E. and Britz, T.J.: Influence of processing stages on antimutagenic and antioxidant potentials of rooibos tea. *J. Agri. Food Chem.*, 49(1), 114-117, 2001.
24. Simon, M., Horovska, L., Greksak, M., Dusinsky, R. and Nakano, M.: Antihemolytic effect of Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) on red blood cells of Japanese quails. *General Physiology and Biophysics.*, 19(4), 365-371, 2000.
25. Nakano, M., Nakashima, H. and Itoh, Y.: Anti-human immunodeficiency virus activity of oligosaccharides from rooibos tea (*Aspalathus linearis*) extracts in vitro. *Leukemia*, 11(3), 128-130, 1997.
26. Shimoi, K., Masuda, S., Shen, B., Furugori, M. and Kinae, N.: Radioprotective effects of antioxidative plant flavonoids in mice. *Mutation Research*, 350(1), 153-161, 1996.
27. Hesselring, P.B. and Joubert, J.R.: The effect of rooibos tea on the type I allergic reaction. *South African Medical Journal*, 62(27), 1037-1038, 1982.
28. Mackaness, G.B.: Delayed hypersensitivity and the mechanism of cellular resistance to infection. In: *Progress in Immunology*, edited by B. Amos, p. 413, Academic press, New York, 1971.
29. 서 응: 少陽人 荊防地黃湯의 抗 Allergy 作用, 又石大學校 大學院 韓醫學專攻, 博士學位論文, 2003.
30. 李濟馬: 東醫壽世保元, 서울, 행림출판사, p.103, 1979.
31. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced exocytosis of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 408, 1974.
32. 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.
33. 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.
34. Yurt, R.W., Leid, R.W. and Austen, K.F.: Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.* 252, 518, 1977.
35. Harvima, R.J., Harvima, I.J. and Traki, J.E.: Optimization of histamine radioenzymatic assay with purified histamine N-methyltransferase. *Clinica Chinica Acta.*, 171, 247, 1988.
36. Perchell, P.T., MacGlashan, D.W., Lichtenstein, L.M. and Schleimer, R.P.: Regulation of human basophil and lung mast cell function by cyclic adenosine monophosphate. *J. Immunol.*, 140, 571-579, 1988.
37. Amir, S. and Englis, A.M.: An inhibitor of nitric oxide production. NG-nitro-L-arginine-methyl ester, improves survival in anaphylactic shock. *Eur. J. Pharmacol.*, 203, 125, 1991.
38. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced exocytosis of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71, 408, 1974.
39. Makino, H., Saijo, T., Ashida, Y., Kuriki, H.H., Maki, Y.: Mechanism of action of an antiallergic agent L-Amlexanox(AA-673), in inhibiting histamine release from mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 82, 66, 1987.
40. Kim, S.H., Lee, K.B., Choi, Y.G., Lee, J.K., Kim, S.H., Kim, S.H., Shin, T.Y.: Effect of *Rubus coreanus* Miq. fruit extract on compound 48/80-induced anaphylactic reactions. *Oriental Pharm. and Exp. Med.*, 2(1), 58-63, 2002.