Journal of the Pharmaceutical Society of Korea
19, 79-86 (1975)

Allergy를 誘發하는 生藥

—銀杏을 中心으로—

韓 大 燮

(Received January 10, 1975)

Dae Sup Han: Crude Drugs Inducing Allergic Reaction. On *Ginkgo biloba*.

Allergy를 誘發하는 生藥은 여러 종류가 있는데 우리 주위에서 흔히 볼 수 있고 강력한 allergy를 발생시키는 것은 銀杏의 果皮[1], 漆汁등이 있다. 이들 發泡性物質에 對한 藥理作用은 觀心事가 되어 洪[2]이 漆汁에 對한 藥理作用, 著者[3]가 銀杏에 對한 藥理學的 研究結果를 發表한바 있다.

銀杏에 對한 研究는 Schwarzenbach[4]에 依하여 銀杏의 新鮮한 外種皮에서 ginkgoic acid ($C_{24}H_{48}O_2$, mp 35°)가 分離되었고 Bechamp[5]는 果汁에서 蟻酸, 醋酸, propion酸, 牛酪酸, valerian酸을 分離하였다. Suzuki[6]는 arginine을 分離하였고 Langley[7]도 Suzuki와 같은 結果를 얻었다. 吉村[8]는 銀杏種子에서 糖, 澱粉, 蛋白質, 脂肪, 粗纖維 및 灰分을 分析하였고 川村[9]는 銀杏의 外種皮에서 ginnol($C_{27}H_{56}O$), ginkgoic acid($C_{22}H_{34}O_3$) 및 bilobol($C_{21}H_{34}O_2$)을 얻었다. 中澤[10]는 銀杏葉에서 ginkgetin을, 古川[11]는 葉에서 ginnol을 각각 分離하였다.

銀杏의 外種皮에는 往往 强力한 發泡性 皮膚炎을 일으키는 例가 많다. 이 發泡性은 옻나무의 urushiol의 發泡性과 類似하며 銀杏의 發泡性 物質로 認定되는 bilobol의 化學構造도 urushiol과 같이 pentadecenyl dihydroxyphenol化合物로서 대단히 類似하다.

著者는 銀杏의 發泡性成分으로 認定되는 bilobol을 銀杏의 外種皮에서 抽出하여 確認하고 이에 對한 藥理學的 實驗을 하였다.

銀杏成分의 分離

銀杏 *Ginkgo biloba* L.의 新鮮한 核果의 外種皮를 ether로 抽出하여 冷却시키면서 10% Na_2CO_3溶液을 泡沫이 發生하지 않을 때까지 滴加하여 다시 ether로 抽出하고 5% NaOH溶

From the Department of Pharmacology, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea.

液으로 鹽基性으로하여 다시 ether로 數回 抽出하였다. Ether 抽出液을 溜去하여 結晶을 析出시켰다. 析出된 粗結晶을 吸引濾過하고 溫 EtOH에 溶解시켜서 活性炭으로 脫色시킨後 減壓濃縮시켜 結晶을 얻었다. 이 結晶을 EtOH로 數回 再結晶시켜 白色結晶 ginnol을 얻었다. NaOH 溶液部分은 d-HCl로 中和시키고 ether로 抽出하여 얻은 黑褐色 粘稠性物質을 溫 EtOH에 溶解시켜서 $Pb(Ac)_2$로 沈澱시키고 過剩의 $Pb(Ac)_2$를 5% NaOH로 中和시켰다. 沈澱物은 EtOH과 ether로 洗滌하여 沈澱物과 母液에 移行하는 物質을 分離시켰다. 沈澱物을 ether에 浮遊시켜 d-HCl를 加한다음 ether로 抽出하여 蒸溜水로 數回 洗滌하여 不純物을 除去하고 無水芒硝를 加하여 잘 振盪한 後 24時間 靜置하여 完全 脫水시킨다음 ether을 蒸發시켜서 褐色粘稠性 extract를 얻었다. 이것을 −15° 以下에서 7日間 靜置하여 析出된 結晶을 吸引 濾過하여 petroleum ether로 數回 再結晶하여 白色針狀結晶인 ginkgoic acid를 얻었다.

前記 ginkgoic acid를 分離한 ethanol-ether 溶液을 減壓濃縮시키고 d-HCl를 加하여 ether로 抽出하고 數回 蒸溜水로 洗滌한 다음 無水芒硝를 加한 後 振盪하여 24時間 靜置하여서 完全히 脫水시킨 다음 ether을 蒸溜시켜서 褐色粘稠性 extract를 얻었다. 이에 少量의

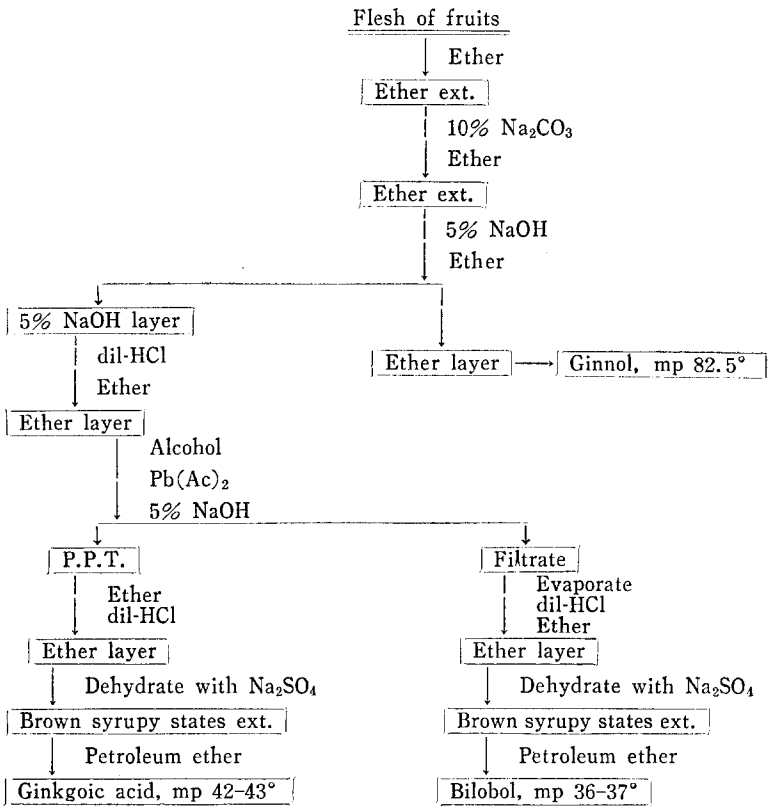
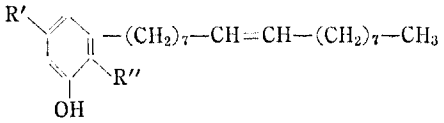


Chart. 1—Isolation procedure of the chemical components of the fruit flesh of *Ginkgo biloba* L.

petroleum ether을 加하여 −15° 以下에서 7日間 靜置하여 析出되는 結晶을 吸引濾過하고 活性炭으로 脫色시킨 後 減壓濃縮하여 結晶을 析出시켰다. 結晶을 濾別하고 petroleum ether로 數回 再結晶하여 白色結晶 bilobol을 얻었다 (Chart 1). 이렇게 하여 分離한 物質의 性質 및 定性反應은 각각 Table I 및 II 와 같다.

Table I-Components isolated from the fruit flesh of *Ginkgo biloba* L.



Comp.	R′	R″	Formula	Mp
Ginnol	—	—	$C_{27}H_{56}O$	82.5
Ginkgoic acid	H	COOH	$C_{22}H_{34}O_3$	42~43
Bilobol	OH	H	$C_{21}H_{34}O_2$	36~37

Table II-Qualitative reaction of ginnol, ginkgoic acid and bilobol.

Reagent	Ginnol	Ginkgoic acid	Bilobol
5% NaOH soln. and $FeCl_3$	Negative	Violet	Negative
5% NaOH soln. and diazobenzol sulfonic acid	Light yellow	Orange red	Orange red
Liebermann's reaction	Ngative	Yellowish brown	Yellowish brown
Millon's reaction	Negative	Negative	Yellowish brown
C-H_2SO_4	Light yellow	Yellow	Yellow

藥 理 實 驗

銀杏의 外種皮에서 分離한 bilobol을 tween 80에 乳化, 營養液에 稀釋하여 檢液으로 하고, 實驗動物로서 rabbit, rat, guinea pig, cock, mouse 및 frog를 사용하였다. 또 사용한 compound 48/80(N-(*p*-methoxyphenyl) methylamine)은 Baltzly *et al.*[12]의 製法에 依하여 formaldehyde와 縮合시킨 化合物이다.

實驗은 Magnus法에 依한 家兎腸管 및 子宮에 對한 作用, Engelmann法에 依한 蛙心臟에 對한 作用, mouse의 致死量에 依한 毒力, 家兎의 血壓 및 呼吸, 毛細血管透過性, histamine 遊離, 尿中의 5-hydroxyindole acetic acid(5-HIAA)의 排泄量 等으로 그 結果는 다음과 같다.

1. Bilobol은 家兎摘出腸管에 痲痺的으로 作用하며 摘出子宮에 對하여서는 收縮作用을 한다.

2. Bilobol은 蛙心臟에 對하여 500mg/kg에서도 顯著한 變化가 없다.

3. Bilobol의 mouse에 對한 LD_{50}은 761mg/kg이다.

4. Bilobol은 家兎血壓에서 一過性인 血壓降下를 招來하고 反復注射로 因하여 tachyphylaxis를 일으킨다. Chlorpheniramine malcate로 前處置한 家兎에서는 血壓降下作用을 招來하지 않고 呼吸은 顯著히 亢進시킨다.

5. 毛細血管 透過性에 對한 作用 : Rat, guinea pig 및 rabbit의 皮膚에 各濃度의 bilobol과 對照로 tween 80을 含有한 生理食鹽水를 注射한 後 40分만에 edematous area를 測定한 結果는 Fig. 1과 같다.

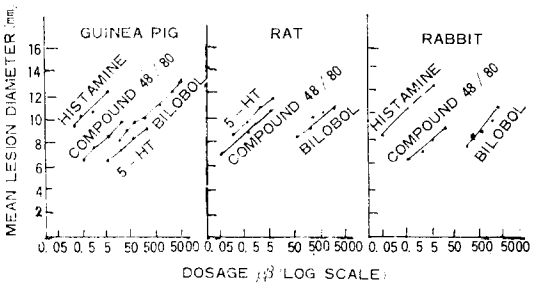


Fig. 1-The relative permeability-increasing potency of bilobol, histamine, 5-HT and compound 48/80 in guinea pig, rat and rabbit.

對照群은 注射後 若干의 反應이 나타난것이 있었으나 40分 以內에 消失하였고 大部分 反應이 없었다. 比較物質로 rat에는 compound 48/80 및 5-HT(5-hydroxy tryptamine)를 使用하였으며 guinea pig에는 histamine, compound 48/80 및 5-HT를 使用하고 rabbit는 histamine과 compound 48/80을 比較物質로 使用하였다. 以上의 成績은 guinea pig가 bilobol에 對하여 가장 銳敏한 edematous area를 나타냈으며 다음이 rat, rabbit, cock의 順이다.

Bilobol이 rat, guinea pig, rabbit 및 cock에 對한 effective blueing dose(E.B.D.)는 Table III과 같이 guinea pig 0.01mg, rat 0.05mg, rabbit 0.1mg, cock 0.1mg이다. 即, 皮膚反應出現率은 guinea pig가 가장 높고 다음에 rat, rabbit, cock의 順으로 減少된다.

Table III-Comparison of E.B.D. of bilobol by experimental animal at 29°.

Animal	Dose(mg)				
	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2
Guinea pig	—	+	+	+	+
Rat	—	—	+	+	+
Rabbit	—	—	—	+	+
Cock	—	—	—	+	+

+; Positive, −; Negative. In each case 18 animals were used.

Chlorpheniramine maleate 0.1mg/kg 및 chlorpheniramine maleate 0.1mg/kg와 BOL(2-brom-D-lysergic acid diethylamide) 4.0mg/kg의 混合液 및 BOL 4.0mg/kg을 各各 rat에

皮下注射하고, 1時間後에 bilobol의 各濃度를 皮內注射하면 bilobol에 依한 浮腫은 Table IV과 같이 抗histamine劑로서는 抑制되나 抗serotonin劑로서는 抑制되지 않는다.

Table IV-The influence of BOL and chlorpheniramine maleate on the intensity of bilobol-induced edema on the skin of rat at 29°.

Pretreated	Bilobol (mg)				
	0.02	0.05	1.0	0.2	0.5
Not pretreated	0*	8.6±0.8	9.4±3.0	10.0±1.0	10.3±1.1
BOL(4.0mg/kg)	0	8.5±0.8	9.3±0.5	9.8±0.7	—
Chlorpheniramine maleate(0.1mg/kg)	0	0	0	8.7±0.9	9.6±1.0
BOL(4.0mg/kg) and chlorpheniramine maleate(0.1mg/kg)	0	0	0	8.8±1.0	9.8±0.9

In each case 24 animals were used. *mm

6. Histamine 遊離의 生物學的 檢定 : Bilobol 0.05mg, 0.1mg, 0.5mg, 1.0gm을 各各 動脈cannula를 通하여 注入한 後 每 20分 마다 80分間 灌流液을 分劃採取하여 histamine의 生物學的 檢定을 한 結果, Table V과 같이 0.1mg에서 부터 histamine의 遊離를 檢定할 수 있었다. 이때 tween 80 만을 含有한 對照實驗灌流液에서는 histamine을 證明하지 못하였다.

Table V-Comparison of histamine releasing activity of rat hind-quaters.

Bilobol(mg)	Time(min)				
	Control	20	40	60	80
0.05	0*	0	0	0	0
0.1	0	0.24±0.05	0.16±0.08	—	—
0.5	0	0.40±0.01	0.37±0.05	0.17±0.08	—
1.0	0	0.40±0.09	0.36±0.06	0.17±0.03	—

*μg. The values were obtained from 6 cases ($p<0.05$.)

Table VI-Comparison of 5-HIAA excretion in the urine bilobol-treated rat (12 hrs).

Animal No.	Group		
	Control	Bilobol 5.0mg/kg	Bilobol 10.0mg/kg
1	15.5*	17.8	14.3
2	15.5	16.0	22.7
3	19.4	10.0	16.6
4	9.0	12.2	12.6
5	15.3	2.2	13.9
6	12.4	19.0	8.4
7	10.0	13.8	16.2
8	12.6	16.0	8.0
Mean±S.D.	13.7±3.36	14.0±4.02	14.1±4.72

*μg.

7. Rat尿中의 5-HIAA 排泄量測定 : Bilobol 5.0mg/kg 및 10.0mg/kg을 各各 rat 腹腔內에 注射後 12時間 採尿하여 尿中의 5-HIAA의 排泄量을 定量한 結果는 Table VI와 같다.

對照群에는 saline solution을 注射하여 比較하였다. 對照群의 排泄量 13.7±3.36 μg에 比하여 bilobol 5.0mg/kg 및 10.0mg/kg을 注射한 群의 排泄量은 14.0±4.02 μg 및 14.1±4.72μg로서 排泄量에는 別變化가 없다.

考察 및 結論

銀杏 *Ginkgo biloba* L.의 新鮮한 核果의 外種皮를 ether로 處理하여 ginnol, ginkgoic acid 및 bilobol을 分離하고 이들 成分의 理化學的 性質을 究明하여 文獻記載와 一致함을 確認하고 가장 發泡性이 强한 것으로 認定되는 bilobol에 對한 藥理作用을 檢討한 바를 總括하면 家兎의 腸管에 對하여는 腸管筋肉에 痲痺的으로 作用하며 家兎子宮에 對하여서는 收縮作用을 나타냈다. 蛙心臟에 對하여는 Engelmann法에 依한 生體內의 蛙心臟에 對한 影響은 500 mg/kg에서도 特記할 變化를 나타내지 않았다. Bilobol의 mouse에 對한 LD_{50}은 761mg/kg로서 毒性은 弱하다고 認定된다. Bilobol의 家兎血壓에 미치는 影響은 一過性인 血壓降下作用을 나타내며 反復注射로서 tachyphylaxis現象이 나타난다. 또 chlorpheniramine maleate로 前處置한 家兎에서는 血壓降下作用을 抑制할 수 있었다. 이 血壓降下作用은 心臟에 대한 作用을 檢討한 結果 蛙心臟에 對하여 500mg/kg의 大量에서도 特記할만한 變化가 나타나지 않으므로 bilobol의 血壓降下作用은 心臟抑制 作用으로 起因한다고 생각하기는 困難하다. 또 皮膚透過性의 亢進 및 rat 下肢灌流液中의 histamine을 遊離시키는 事實로 미루어 볼때 bilobol에 依한 血壓降下作用은 histamine遊離로 起因된다고 思料되며 이 血壓降下作用에 對하여서는 urushiol의 histamine遊離가 血壓에 미치는 影響에 關한 洪[12]의 報告와 人蔘의 histamine 遊離와 血壓과의 關係에 對한 李[13] 等의 報告와 類似한 機轉으로 思料된다. Bilobol은 家兎呼吸을 持續的으로 亢進시키고 血壓이 正常으로 恢復되어도 繼續하여 亢進된다. Bilobol의 毛細血管透過性에 對한 作用은 guinea pig가 가장 顯著하며 다음 rat, rabbit의 順이다. 이 毛細血管透過性에 對하여서는 histamine 또는 histamine liberator가 關與된다는 Miles and Miles[14], Paton[15] 및 Gaddum[16] 等의 報告가 있고 5-HT가 毛細血管透過性에 對하여 histamine과 같은 役割을 한다는 Rowely and Bendit[17], Spector[18] 等의 報告가 있다. 또 histamine과 5-HT는 動物의 種類에 따라서 그 感受性이 다르고 皮膚浮腫反應의 直徑과 log-濃度와의 關係가 直線的인 座標를 表示한다는 Sparrow 및 Wilhelm[19] Parratt 및 West[20]의 報告가 있으며 5-HT 自體도 histamine releaser가 된다는 Feldberg와 Smith[21]의 報告가 있다. 著者가 實驗한 結果에 依하면 bilobol濃度의 log-scale과 皮膚浮腫青斑의 直徑과의 關係는 Fig.1과 같이 比較 物質인 histamine, 5-HT 및 compound 48/80과

類似한 直線을 나타낸다.

Rat에 있어서 antihistamine劑인 chlorpheniramine maleate로 前處置한 群에서는 bilobol에 依한 皮膚反應出現이 顯著히 減少되나 antiserotonin劑인 BOL로 前處置한 群에서는 bilobol에 依한 皮膚浮腫反應에 別다른 變化가 없으므로 미루어 보아 bilobol의 皮膚浮腫反應은 bilobol이 histamine liberator로서 作用된다고 思料된다.

Bilobol에 對한 rat의 下肢灌流液中의 histamine의 量은 Table V에 表示한바와 같이 rat 下肢灌流液中의 histamine遊離는 0.1mg에서부터 始作되며 0.5mg로서 histamine의 量이 最大로 增加함을 觀察하였다.

Bilobol을 注射한 rat群의 5-HIAA의 尿中 排泄量은 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 認定하지 못하였다.

以上의 實驗結果를 綜合하여 볼때 antihistamine劑로 前處置한 家兎에서는 bilobol에 依한 血壓降下作用이 나타나지 않으며 毛細血管透過性이 antihistamine劑에 依하여 抑制되고 antiserotonin劑인 BOL로서는 影響을 받지 않는다는 點 및 rat 下肢灌流液中 histamine을 遊離시킨다는 事實 또 bilobol을 注射한 rat群의 尿中 5-HIAA量이 對照群에 比하여 有意性있는 增加를 認定치 못한다는 點 等으로 미루어 보아 bilobol은 histamine을 遊離하며 5-HT의 遊離에는 關與치 않는다. 即 allergy를 誘發하는 原因은 生藥成分의 直接的인 毒性으로 因함이 아니고 生體內에서 histamine을 遊離하여 histamine作用으로 allergy가 發生되고 antihistamine藥으로 抑制된다.

文 獻

1. 鄭台鉉, 韓國植物圖鑑 上卷, 1, **1972**.
2. 洪思岳, *Seoul J. Medicine*, **2**, 99 (1961).
3. 韓大燮, 서울의대잡지, **5**, 281 (1964).
4. Schwarzenbach, *Jahresberichte uber die Fortschritt der Chem.*, **1857**, p-529.
5. Becamp, *Ann. Chim. Phys.*, **1**, 228 (1960).
6. U. Suzuki, *Bull. Coll. Agricult. Tokyo*, **4**, 1 (1900); *ibid.*, 25 (1900).
7. Langley, *J. Am. Chem. Soc.*, **29**, 1513 (1907).
8. 吉村清尙, 日本化學雜誌, **37**, 863 (1916).
9. 川村實平, *Jap. J. Chem.*, **3**, 89 (1928).
10. 中澤浩一, 日藥誌, **6**, 174 (1931).
11. 古川 周, *Soc. Papers of Inst. Phys. Chem. Research*, **19**, 29 (1932).
12. R. Baltzly *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, 1301 (1949).
13. 李宇柱, 張雲燮, 李世珪, 最新醫學, **3**, 37 (1960).
14. A.A. Miles and E.M. Miles, *J. Physiol.*, **118**, 228 (1952).
15. W.D.H. Paton, *Pharmacol. Rev.*, **9**, 269 (1957).
16. J.H. Gaddum, *Brit. Med. J.*, **1**, 867 (1948).

17. D.A. Rowley and E.P. Benditt, *Exp. Med.*, **103**, 399 (1956).
18. W.G. Spector, *Pharmacol. Rev.*, **10**, 475 (1958).
19. E.M. Sparrow and Wilhelm, *J. Physiol.*, **137**, 51 (1957).
20. J.R. Parrat and G.B. West, *J. Physiol.*, **137**, 179 (1957).
21. W. Feldberg and A.N. Smith, *Brit. J. Pharmacol.*, **8**, 406 (1953).