

Erythrosine의 藥理學的 研究

Pharmacological Studies of Erythrosine

金 振 賢 · 安 永 蘭 · 金 學 成*

忠北大學校 藥學大學

Jin Hyon Kim, Young Ran Ahn and Hack Seang Kim

(Received March 10, 1982)

The effects of erythrosine on motility of frog heart, rabbit duodenum and uterus isolated, and on mice intestinal motility and voluntary activity were investigated.

The effect of erythrosine $2.3 \times 10^{-5} M$ on isolated frog heart showed a slight decrease of the amplitude of motility, and the heart motility stopped in $3.5 \times 10^{-4} M$. With the administration of erythrosine $3.4 \times 10^{-4} M$, the isolated rabbit duodenum showed a remarkable contraction and this effect was inhibited by atropine $1.4 \times 10^{-7} M$. The administration of erythrosine 2.3×10^{-3} , produced a contractile effect on the isolated rabbit uterus, and the motility of $6.9 \times 10^{-3} M$ started to increase in contractions at first and finally stopped, keeping in continuous contractions. The effects of erythrosine 0.5, 1.0, 10, and 20mg/kg on mice intestinal motility were not significantly different from this of the normal control. With 20 and 40mg/kg of erythrosine, the effects on voluntary activity showed the decrease of 21 and 58% respectively, and voluntary activity of the mice pretreated with erythrosine 20 and 40mg/kg, induced by C.N.B. 30mg/kg showed the decrease of 57 and 78% respectively in contrast with the normal control group.

食用色素의 安全性에 관한 研究는¹⁾ 1950년대 人體에 대한 毒性이 發見된 以後 檢討되었으 며, erythrosine에 관한 研究도 활발히 進行되어 dog,²⁾ gerbil,²⁾ rat³⁾에 대한 實驗에서 毒性이 나타나지 않았고, mouse의 tumorigenicity test에서 腫瘍生成이 없는 比較的 安全한 物質로 報告되었다⁴⁾.

그러나, 人工食用色素와 芳香劑 및 salicylate 製劑의 攝取가 어린이에게 hyperactivity를 誘發한다고 報告된 以來^{5,6)}, 이에 대한 妥當性이 널리 論議되어 왔다^{7,8)}. 食品添加物이 含有되지 않은 食事 즉 feingold diet로 實施한 hyperactive 어린이 46명에 대한 二重盲檢法⁹⁾

과 hyperactive 어린이 142명에 대한 一聯의 open trial에서¹⁰⁾ 約 50%가 hyperactivity의 減少를 나타내었으나, 아직도 이 效果에 대한 重要性和 mechanism은 疑問으로 남아 있다.

最近 erythrosine이 骨格筋末端에서 acetylcholine을 非可逆적으로 遊離시킨다는 作用 mechanism이 糾明되어 이 方面의 藥物學의 研究에 使用할 수 있게 되었다¹¹⁾.

著者는 erythrosine의 개구리 摘出心臟, 토끼 摘出腸管 및 摘出子宮, mouse 腸運動에 대한 作用과 mouse에 있어서 hyperactivity의 有無를 追究할 目的으로 本 研究을 行하였다.

實 驗 方 法

試料—Erythrosine(南藥商社 小分品), carbachol(SIGMA),, atropine sulfate inj. (大元製藥)을 使用하였다.

개구리 摘出心臟에 대한 實驗—Straub-Fühner法에 따라 心臟을 摘出하고, 한 쪽을 lever에 連結한 serrefin을 濕室아래 구멍을 通하여 心尖에 固定시켜 裝置하고, 各 藥物의 作用을 kymograph에 나타내었다.

濕室안에 Ringer溶液을 넣어 濕氣를 保存하였고, Straub's cannule의 ringer溶液도 數回 바꾸어서 使用하였다.

토끼 摘出腸管에 대한 實驗—50ml의 Magnus管에 tyrode溶液을 一定하게 넣고, 산소를 供給, 溫度를 37~38°C로 維持한 後 토끼를 失血致死시켜 摘出한 腸管을 約 1.5cm로 잘라 Magnus管에 serrefin으로 固定하고 writing lever에 連結시켜 그의 自動運動을 kymograph에 描記하였다.

토끼 摘出子宮에 대한 實驗—토끼(2.0kg, ♀)를 失血致死시킨 後 子宮을 摘出하여 Locke溶液內에 保存하고, 1~2cm의 切片으로 만들어 Magnus管에 懸垂시키고 그의 運動을 kymograph에 그리게 하였다.

營養液은 Locke溶液을 使用하였고, 37~38°C로 유지하면서 끊임없이 산소를 供給하여 飽和시켰다. 實驗藥物은 Magnus管器壁을 따라 投與하였다.

Mouse 腸運動에 대한 實驗—Macht-Barba-Gose의 方法¹²⁾에 따라서 mouse 10마리를 一羣으로 하여 하루저녁 絶食시키고, erythrosine 0.2ml/20g을 腹腔內注射하고 30分 後 charcoal meal(purified animal charcoal 12.0g, tragacanth 2.0g, water 130ml) 0.2ml/20g을 經口投與하고 15分 後에 charcoal meal이 幽門에서 腸을 따라 移動한 距離를 小腸(幽門에서 回腸—盲腸의 接合部)까지의 길이에 대한 퍼센트로 나타내었다. 對照群은 saline을 投與하여 同一하게 處理하여 使用하였다.

Mouse 自發運動 實驗—Dews方法¹³⁾에 따라 體重 20g內외의 mouse 5마리를 一羣으로 하여 藥物을 腹腔內注射하고 箱子(activity Cage)에 넣어 箱子의 短軸을 가로지르고 있는 光束의 遮斷回數를 每 5分마다 35分間 digital counter로 測定하였다. 이를 3回 反復하여 自發運動數를 마리當 平均運動數로 表示하고 erythrosine의 效果를 control activity에 對하여 平均減少率로 나타내었다. 對照實驗群으로는 saline處理群을 使用하였다.

自發運動 抑制實驗으로는 erythrosine을 腹腔內注射하여 35分間 自發運動을 測定하고, 35分間 休息시킨 後 caffeine sodium benzoate (C.N.B.) 30mg/kg을 腹腔內注射하여 箱子에 넣고, 光束의 遮斷回數를 每 5分마다 35分間 digital counter로 測定하였다. 이를 3回 反復하여 自發運動數를 마리當 平均運動數로 表示하고, erythrosine의 效果를 saline과 C.N.B.

30mg/kg投與로 誘導된 自發運動數와 比較하여 平均減少率로 나타내었다.

本實驗은 $23 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 實施하였다.

實 驗 結 果

개구리 摘出心臟에 대한 影響——摘出心臟에 대한 erythrosine의 効果는 $2.3 \times 10^{-5}\text{M}$ 에서 가벼운 振幅의 減少를 나타내었으며, $6.9 \times 10^{-5}\text{M}$ 에서 正常運動의 約 $\frac{1}{2}$ 程度 減少하였고 $3.5 \times 10^{-4}\text{M}$ 을 投與하였을 때 心臟運動은 停止하였다(Fig. 1.).

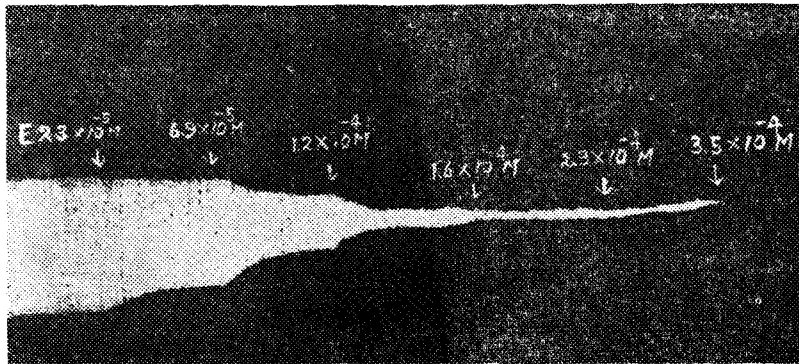


Figure 1—Effect of erythrosine on the motility of the isolated frog heart.

Carbachol 4.4×10^{-7} 에서 心臟運動의 振幅은 減少하기 시작하였으며, $1.1 \times 10^{-6}\text{M}$ 에서 約 $\frac{1}{2}$ 程度 減少하였고, $4.4 \times 10^{-6}\text{M}$ 을 投與하였을 때 心臟運動은 거의 停止狀態에 이르렀다. (Fig. 2.)

Erythrosine 1.1×10^{-3} 에서 一時的 收縮效果를, (Fig. 3.) $3.4 \times 10^{-3}\text{M}$ 을 投與하였을 때는 顯著한 收縮高를 나타내었으며, 이는 atropine $1.4 \times 10^{-7}\text{M}$ 의 投與로 正常으로 復歸되었다(Fig. 4.).

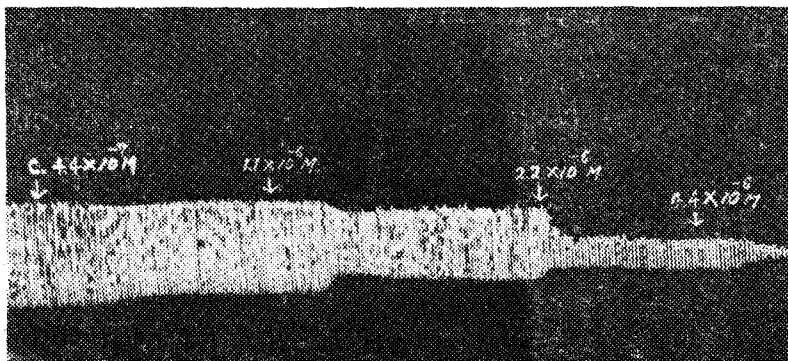


Figure 2—Effect of carbachol on the motility of the isolated frog heart.

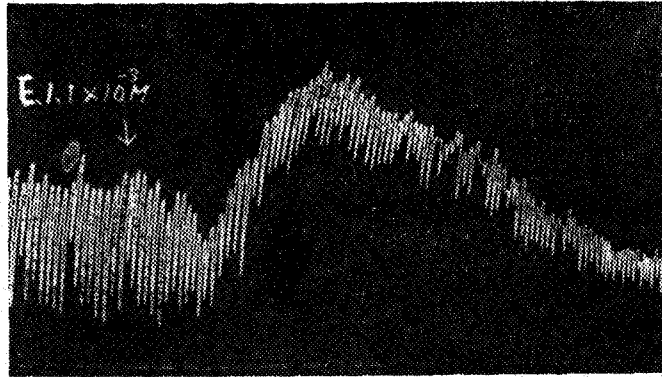


Figure 3—Effect of erythrosine on the motility of the isolated rabbit duodenum.

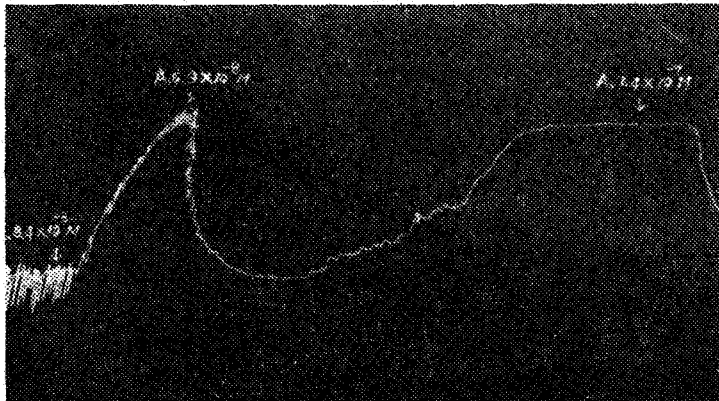


Figure 4—Antagonistic effect of atropine to erythrosine in the isolated rabbit duodenum.

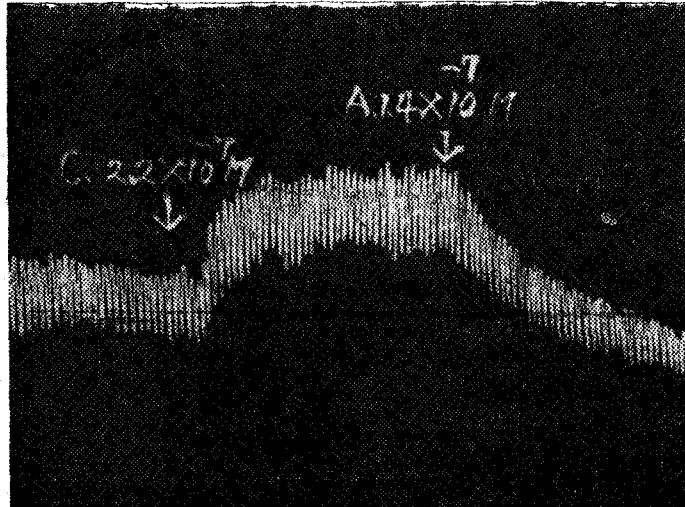


Figure 5—Antagonistic effect of atropine to carbachol in the isolated rabbit duodenum.

토끼摘出腸管에 대한 carbachol의 作用은 $2.2 \times 10^{-7} M$ 에서 收縮되었으며, atropine $1.4 \times 10^{-7} M$ 을 投與하였을 때 腸管運動은 顯著하게 弛緩되었다. (Fig. 5.)

토끼摘出腸管에 대한 影響——Erythrosine, $2.3 \times 10^{-6} M$ 을 投與하였을 때 子宮運動은 收縮

되었으며, $6.9 \times 10^{-3}M$ 에서 收縮運動은 顯著하게 增加하여 持續的인 收縮을 나타내었다. (Fig. 6.)

Mouse 腸運動에 대한 效果—Erythrosine 0.5, 1.0, 10.0 및 20.0 mg/kg 投與群에서 各各 40.5 ± 4.0 , 41.1 ± 3.0 , 40.9 ± 1.9 및 $40.1 \pm 1.2\%$ 로 對照群 $39.2 \pm 2.2\%$ 에 比하여 有意性이 없었다(Table 1.).

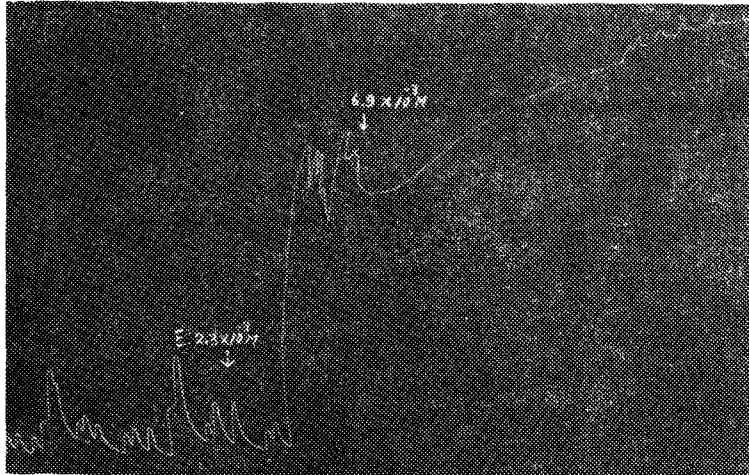


Figure 6—Effect of erythrosine on the motility of the isolated rabbit uterus.

Mouse 自發運動에 미치는 影響—Erythrosine 20mg/kg을 投與한 mouse의 自發運動數는 $56 \text{回} \pm 1.29$ 로서 對照群 $71 \text{回} \pm 0.64$ 에 比하여 21% 減少하였고, 40mg/kg投與群의 自發運動數는 $30 \text{回} \pm 6.34$ 로서 對照群에 比하여 58% 減少하였다. ($p < 0.001$) (Fig. 7.a).

Table I - Effect of Erythrosine on Intestinal Motility

Group of Mice	Saline 0.2ml/20g	Erythrosine 0.5mg/kg	Erythrosine 1.0mg/kg	Erythrosine 10mg/kg	Erythrosine 20mg/kg
1	37.6%	46.6%	56.9%	49.4%	44.8%
2	40.4	27.6	42.7	39.8	41.9
3	35.0	58.8	34.2	34.7	39.6
4	46.0	36.6	29.7	39.2	46.5
5	49.1	59.8	50.6	38.1	40.4
6	34.2	35.4	32.4	38.9	36.8
7	28.7	30.6	28.4	38.5	38.7
8	34.2	44.7	48.4	33.5	37.3
9	37.4	31.4	43.9	47.1	42.1
10	49.7	33.4	43.8	50.0	33.3
Mean \pm S.E.	39.2 ± 2.2	40.5 ± 4.0	41.1 ± 3.0	40.9 ± 1.9	40.1 ± 1.2

Erythrosine 20mg/kg로 處理된 mouse에 C.N.B. 30mg/kg을 投與하였을 때 일어난 自發運動數는 $66 \text{回} \pm 0.92$ 로 對照群 $153 \text{回} \pm 1.34$ 에 比하여 57% 減少하였다. 또한 40mg/kg로 處理된 mouse에 C.N.B. 30mg/kg投與로 誘導된 自發運動數는 $33 \text{回} \pm 0.67$ 로 對照群에 比하

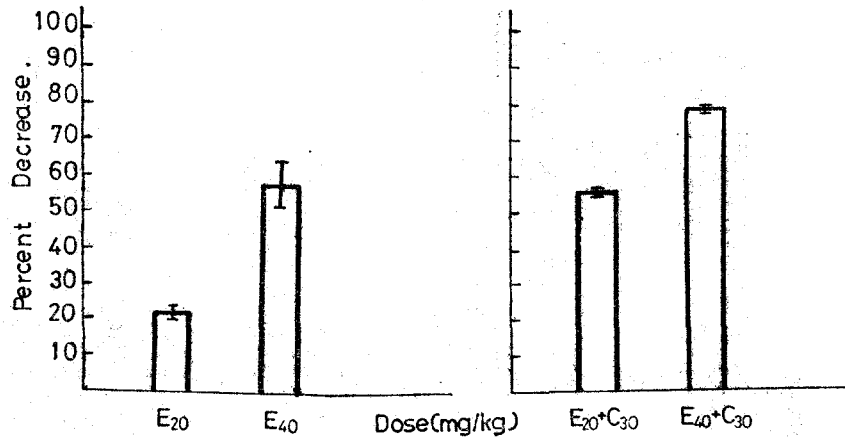


Figure 7-a. Effect of erythrosine on voluntary activity in mice.

b. Effect of C.N.B on voluntary activity in mice pretreated with Erythrosine.

여 78% 減少하였다. ($p < 0.001$) (Fig. 7. b)

考 察

人工食用色素의 理想的 條件은 毒姓이 없으며 體內에 蓄積 또는 貯留하지 않아야 한다.

그러나 最近에 몇몇 色素에서 發癌性和 催畸性의 可能性이 報告되었으며¹⁴⁾, 또한 食用色素와 다른 食品添加物의 behavioral effect에 관한 疑問이 높아졌고, 아직 糾明되지는 않았지만 感受性이 있는 어린이에게 이들 色素가 hyperactivity와 다른 behavioral abnormality를 일으킨다는 多數의 意見이 提起되었다^{15,16,17)}.

最近의 報告에 의하면 이들 色素中의 하나인 erythrosine이 frog neuromuscular junction에서 synaptic effect가 있으며,¹⁸⁾ rat caudate synaptosome에서 dopamine transport를 抑制하며, 이는 erythrosine이 hyperkinetic behavior를 誘發할 수 있는 central excitatory agent로서 作用할 지 모른다는 假說과 一致한다고 하였다.¹⁹⁾

또한 rat brain homogenate에 의한 neurotransmitter accumulation 抑制효과도 報告되었으나 이것으로 hyperactivity의 誘發을 證明하지는 못하였다.²⁰⁾

本 實驗에서 摘出臟器에 대한 erythrosine의 効果는 acetylcholine과 같은 parasympathomimetic effect가 있음을 確認하였다. 그러나 mouse의 腸運動에 대한 亢進效果는 나타나지 않았으며, 또한 mouse에 있어서 hyperactivity의 有無를 追究하기 위한 mouse 自發運動 實驗에서의 抑制效果는 어린이에게 hyperactivity를 일으킨다는 報告와 一致하지 않으나, 實驗動物, 實驗方法의 差異라 생각하며 erythrosine의 中樞 및 腸運動에 대한 效果는 더욱 追究되어야 할 것이다.

結 論

Erythrosine의 개구리 摘出心臟, 토끼 摘出腸管 및 摘出子宮, mouse 腸運動에 대한 作用과

mouse 自發運動에 미치는 影響은 다음과 같다.

- 1) 개구리 摘出心臟運動을 抑制하였다.
- 2) 토끼 摘出腸管運動은 比較的 顯著하게 收縮되었으며, 이는 atropine의 投與로 拮抗되었다.
- 3) 토끼 摘出子宮運動도 顯著하게 收縮되었다.
- 4) Mouse 自發運動은 뚜렷한 減少를 나타내었다.

文 獻

- 1) B.J. Vos, J.L. Radomski, and H. N. Fuyat, *Fed. Proc.*, **12**, 376 (1953)
- 2) FAO/WHO., *Rep. Ser. No. 46A*, 35 (1969)
- 3) A.A. Nelson, and E.C. Hagan, *Fed. Proc.*, **12**, 397~398 (1953)
- 4) N. Waterman, G.O.E. Lignac, *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.*, **7**, 35~55 (1958)
- 5) B.F. Feingold, "Why Your Child Is Hyperactive", New York, Random House, (1975)
- 6) B.F. Feingold, *Am. J. Nurs.*, **75**, 797-803 (1975)
- 7) Interagency Collaborative Group on Hyperkinesia, "First Report on the Preliminary Findings and Recommendations, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Washington, D.C., (1975)
- 8) F. Levy, S. Dumbrell, G. Hobbes, N. Ryan, N. Wilton, and J.M. Woodhill, *Med. J. Austr.*, **1**, 61~64 (1978)
- 9) J.P. Harley, R.S. Ray, L. Tomasi, R.L. Eichman, C.G. Matthews, R. Chun, C.B. Cleeland, and S. Traisman, *Pediatrics*, **61**, 818-828 (1978)
- 10) National Advisory Committee on Hyperkinesia and Food Additives: Report to the Nutrition Foundation, Nutrition F., New York (1975)
- 11) G.J. Augustine and H. Levitan, *Science*, **207**, 1489-1490 (1980)
- 12) D.I. Macht and J. Barba-Gose, *J. Am. Pharm. Ass.*, **20**, 588-564 (1931)
- 13) P.B. Dews, *Brit. J. Pharmacol.*, **8**, 46~49 (1953)
- 14) J.J.P. Drake, *Toxicology*, **5**, 3~42 (1975)
- 15) J.I. Williams, D.M. Cram, F.T. Tausing, and E. Webster, *Pediatrics*, **61**, 811~817 (1978)
- 16) J.M. Swanson and M. Kinsbourne, *Science*, **207**, 1485~1487 (1980)
- 17) B. Weiss, J.H. Williams, S. Margen, B. Abrams, B. Cann, L.J. Citron, C. Cox, J. Mckibben, and D. Ogar, S. Schultz, *ibid.*, **207**, 1487~1489 (1980)
- 18) G.J. Augustine and H. Levitan, *Soc. Neurosci. Abstr.*, **3**, 370 (1977)
- 19) J.A. Lafferman and E.K. Silbergeld, *Science*, **205**, 410~412 (1979)
- 20) W.J. Logan and J.M. Swanson, *ibid.*, **206**, 363~364 (1979)