

마황의 면역작용에 미치는 효과

김태희 · 양기숙 · 황은진 · 박성배
숙명여자대학교 약학대학, 서울시 보건환경연구원

Effect of Ephedrae Herba on the Immune Response in Mice

Tae Hee Kim*, Ki Sook Yang, Eun Zin Hwang and Sung Bae Park

*College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul, 140-742 and
Seoul Metropolitan Government Institute of Health and Environment, Seoul, 130-137, Korea

Abstract—The effects of Ephedrae herba on cellular and humoral immune responses were investigated in mice. Group A and B of mice received intraperitoneal injection of methanol extracts, ether fraction(E), petroleum ether fraction(PE), ethyl acetate fraction(EA) and water fraction(W) for 5 days or 10 days before sensitization. The other group received i.p. injection of ephedrine (Ep) or pseudoephedrine (ϕ Ep) for 1 day prior to sensitization. The change of body and spleen weights showed a tendency of decreasing but that of thymus showed increasing. Ear swelling was maximum at 48 hours after challenge and was significantly decreased in the groups treated with EA, W, Ep, and ϕ Ep. HA titer was enhanced in EA, W and EP treated groups, HE titer being significantly decreased.

Keywords—Ephedrae Herba · contact delayed type hypersensitivity · anti SRBC antibody titers

마황은 마황과(Ephedraceae)에 속하는 다년생 초본 혹은 초본성목본으로서 *Ephedra sinica* Stapf 혹은 그외의 동속식물의 지상경을 건조하여¹⁻²⁾ 한방에서는 발한, 해열, 진해, 항염증의 목적으로 빈용되어 왔다. 한편 근을 건조한 것을 마황근이라 칭하여 예로부터 지상부와 반대 작용이 있어 지한약으로 쓰였다.³⁾ 마황의 전초에는 ephedrine, pseudoephedrine, *l*-N-methylephedrine, *d*-N-pseudomethylephedrine, *l*-norephedrine, *d*-methylephedrine을 함유한다.⁴⁾ 그외에 정유성분으로 1- α -terpineol, nonacosanol, nonacosane, triacontanol 등이 있으며, Nawwar⁵⁾ 등에 의해 *p*-coumaric acid, (\pm)-syringaresinol, nilocitrin도 확인되었다. 또한 Hikino등⁶⁾은 마황 중에서 hypoglycemic activity를 가지는 eph-

edrane A, B, C, D, E의 존재를 보고하였다. 한편 마황근으로부터 ephedrine A, B, C가 분리되었다.⁷⁾

마황의 약리작용을 나타내는 주된 물질은 알카로이드이며 이의 정량법으로는 적정법,⁸⁻⁹⁾ TLC¹⁰⁾법, GC¹¹⁻¹²⁾법, ¹³C-NMR에 의한 방법¹²⁾ 외에 HPLC¹⁴⁻¹⁹⁾법 등이 알려져 있다, ephedrine은 adrenaline 유사의 교감신경 흥분작용, dopamine양 증추흥분작용을 갖는 대표적 물질로서 진해, 해열, 항염작용²⁰⁻²¹⁾과 항 allergy작용²²⁾을 갖는다. 한방에서 allergy성 질환의 치료에 많은 생약이 사용되고 있지만 그 작용의 실험적인 증명은 충분하지 않은 실정이다. 이중 마황에 대해 Kasahara 등²³⁾은 prostaglandin E의 생합성 억제에 의한 항염증작용을 Adachi 등²⁴⁾은 guinea

pig macrophage procoagulant activity에 대해 보고 하였다. 한편 마황의 항 allergy작용에 관해서 江田등²²⁾은 감작 물뭇트 폐절편에 항원을 작용시켜 유리하는 anaphylactic mediator양이 마황의 물엑스에서는 60~80%, 알콜엑스에서는 60% 이하로 감소를 보인다고 하였으나 마황이 지연형과민반응에 미치는 영향에 관한 보고는 없다.

이에 저자들은 2,4-dinitrofluorobenzene(DNFB)에 의해 유발된 접촉성 지연형 과민반응(contact delayed type hypersensitivity; CDTH)을 ear swelling test (EST)로 측정하여 마황이 세포성 면역반응에 미치는 영향을 관찰하고 면양적혈구(SRBC)에 대한 항체형성반응, 체중변화 장기중량비 등을 검토한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

재료—본 실험에 사용한 마황은 시중에서 구입하였다.

실험동물—웅성의 ICR마우스(25±2 g)를 사용하였다.

시약—Dinitro fluorobenzene, ephedrine HCl, pseudoephedrine HCl은 Sigma 제품을 사용하였으며 면양적혈구는 국립보건원, guinea pig serum은 녹십자(주)로부터 분양 받았으며 기타 시약은 모두 GR grade를 사용하였다.

기기 및 기구—HPLC (Waters 484 Tunable absorbance detector, Waters 510 HPLC Pump, Waters 745B Datamodule), Hanil HA-50 centrifuge, 기구로는 clipper(Oster Ajustable Model 284A Series), micrometer (Mitutoyo engineers Tokyo Japan) microtitration tray (Nucleon Chem. Co.) 등을 사용하여 측정하였다.

시료의 조제—마황 약 200 g을 세절하여 메탄올을 가하여 수욕상에서 추출하여 얻은 메탄올 엑스를 증류수에 현탁하여 petroleum ether 분획, ether분획, ethyl acetate 분획, water 분획을 얻었다. 각분획을 생리식염수로 희석하여 시료로 하고 각 분획중의 ephedrine, pseudoephedrine의 함량을 측정하였다.

약물투여방법—실험시작전 5일 투여군(Group A), 10일 투여군(Group B)과 ephedrine HCl, pseudoephedrine HCl 1일 투여군(Group C)으로 나누어 다음과 같이 실험하였다. normal군 및 negative control (NC)군과 positive control (PC)군은 생리식염수만을 투여하였고 시료투여군은 petroleum ether 분획(이하 PE I, PE II), ether 분획(E I, E II), ethyl acetate 분획(EA I, EA II), water 분획(W I, W II)을 50 mg/kg (I)과 100 mg/kg(II)으로 복강내주사하였으며 ephedrine·HCl (Ep I, Ep II)과 pseudoephedrine·HCl (ϕ Ep I, ϕ Ep II)은 각각 25 mg/kg과 50 mg/kg(II)으로 1회 복강내 주사하였다.

체중 및 장기중량의 측정—체중은 약물투여 시작일로 부터 24시간마다 측정하였으며 최초의 무게에 대한 증량변화율을 산출하였다. 각 장기중량의 측정은 실험동물의 경동맥을 절단하여 채혈후 즉시, 간장, 비장, 흉선을 각각 적출하여 주위의 조직과 지방을 제거하여 그 중량을 측정하였으며 최종 체중에 대한 백분율을 구하였다.

접촉성 지연형 과민반응의 측정—접촉성 지연형 과민반응(CDTH)을 보기 위해 Claman 등²⁵⁻³¹⁾이 기술한 방법에 준하여 실험하였다.

1) 알레르겐 (Allergen)

CDTH유발을 위한 물질로 감작에는 0.5%, 유도에는 0.2%의 DNFB를 사용하였으며 용매는 acetone : olive oil (4 : 1) 혼액을 사용하였다.

2) 감작 (Sensitization) 및 유도 (Challenge)

마우스의 복벽 약 3 cm²를 clipper와 면도기를 사용하여 털을 제거한 후 PC군 및 시료투여군에서는 실험 제 1일에 DNFB용액 25 μ l씩을 micropipette으로 서서히 고루 점적하여 감작시켰으며 본 조작을 하루간격으로 2회 실시하였다. 실험 제 6일에 0.2% DNFB용액 20 μ l씩을 micropipette을 사용하여 마우스의 耳前面에 고루 점적, 도포함으로써 유도시켰다. Normal군에서는 감작 및 유도의 모든 경우에 동일량의 acetone : olive oil (4 : 1)의 혼액을 동일한 방법으로 적용하였으며 NC군에서는 normal군과 동일하게 감작시키고 0.2% DNFB 20 μ l로 유도시켰다.

3) 과민반응의 측정

과민반응의 발현척도는 이중창치(ear swelling test: EST)로 측정하였으며 기구는 마이크로미터를 사용하였다. 측정은 실험 제 3일부터 제 4일, 제 5일, 제 6일에 마우스의 양쪽 귀 각각에 대해 동일부위를 3회 이상씩 측정하여 그 평균치를 기저치로 하였다. 유도후 일정시간 경과후에 같은 방법으로 측정하고 평균치를 계산하여 기저치를 뺀 값을 이중창치로 하였다.

면양적혈구에 대한 항체가 측정—항원으로 면양적혈구(sheep red blood cell: SRBC)를 사용하였다. 즉 응성면양의 경동맥에서 heparin을 처리한 주사기로 채혈한 후, 동량의 Alserver's액을 가하여 4°에서 보존하여 2주일 이내에 사용하였다. 보존중인 SRBC를 사용할 때는 PBS(phosphate buffered saline, pH 7.2)로 3회 원심세척후 SRBC를 4×10^8 cell의 농도³²⁾로 하여 실험 제 3일에 실험군 및 PC군의 복강내 주사하여 면역시켰으며 normal군은 PBS만을 투여하였다. 혈청의 비동화는 혈액을 채취하여 응고시킨 후에 원심분리하여 혈청을 분리하고 56°에서 30분간 비동화시킨 후 4°에서 보존하여 사용하였다.

1) 적혈구 응집소(Hemagglutination titer; HA titer)의 측정

河登³³⁾의 방법에 따라 실시하였다. SRBC의 응집소가를 microtitration tray를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 각 실험동물로부터 얻은 각각의 비동화시킨 혈청을 각 well에 PBS로 2배계열로 희석한 후 PBS에 부유한 SRBC 2×10^8 cells/ml를 각 well에 첨가하여 잘 혼합시켰다. 37°의 항온기에서 2시간 보관시킨 후 적혈구 응집유형을 관찰하였으며 응집을 일으키는 혈청의 최고희석도를 응집소가로 하였다.

2) 적혈구 용혈소(Hemolysin titer: HE titer)의 측정

SRBC의 용량 및 혈청의 희석은 응집소 측정시와 같은 방법으로 하였으며 SRBC와 희석혈청이 들어있는 각 well에 guinea pig serum (complement)을 PBS로 20배 희석하여 25 μ l씩 가한 다음 37°에서 1시간 두었다가 용혈여부를 관찰하였다. 이때 완전 용혈을 일으키는 혈청의

최고희석도를 용혈소가로 판정하였다.

실험결과 및 고찰

시료 중 Ephedrine 및 Pseudoephedrine의 함량

마황 약 200 g을 메탄올로 추출하여 엑스를 얻었다(수득률 18.6%). 이 엑스를 상법에 따라 분획을 실시하여 PE분획 0.96 g(수득률 2.4%), E분획 1.65 g(4.0%), EA분획 2.16 g(5.3%),

Table I. Effects of *Ma-huang* extract on body weights in ICR mice

Group	Group A ^{a)}	Group B
NC ^{d)}	31.60±1.01 ^{b)} (14.48±0.47) ^{c)**}	32.47±0.29 (19.17±0.87)**
PC	30.33±0.64 (8.57±0.94)	30.53±1.09 (13.53±1.03)
PE I	30.07±0.24 (11.04±0.07)**	31.83±1.17 (11.00±0.51)†
PE II	32.33±0.37 (14.75±1.22)**	32.90±1.21 (14.43±0.58)
E II	29.23±0.57 (8.86±1.18)	29.07±0.57 (11.53±0.26)†
E I	29.07±1.00 (7.61±0.25)†	31.73±1.13 (11.63±2.10)†
EA I	29.10±0.40 (14.25±1.13)**	29.03±0.74 (11.90±1.05)†
EA II	31.50±0.98 (8.57±0.83)	30.38±0.51 (9.03±1.03)††
W I	29.78±0.70 (7.10±0.19)†	31.20±0.90 (9.47±1.43)††
W II	29.70±0.91 (7.12±0.30)†	32.67±0.48 (8.63±1.07)††

a) Group A : *Ma-huang* extract was administered i.p. for 5 days before their sensitization.

Group B : *Ma-huang* extract was administered i.p. for 10 days before their sensitization.

b) Each value is mean±S.E. of 4~5 mice.

c) The number in parenthesis is weight gain(%).

d) NC: Negative control group.

PC: Positive control group.

PE I, PE II : Petroleum ether fraction treatment group.

E I, E II : Ether fraction treatment group.

EA I, EA II : Ethyl acetate fraction treatment group.

W I, W II : Water fraction treatment group. I (50 mg/kg) II (100 mg/kg).

e) Significantly different from PC group.

†, *p<0.05, ††, **p<0.01

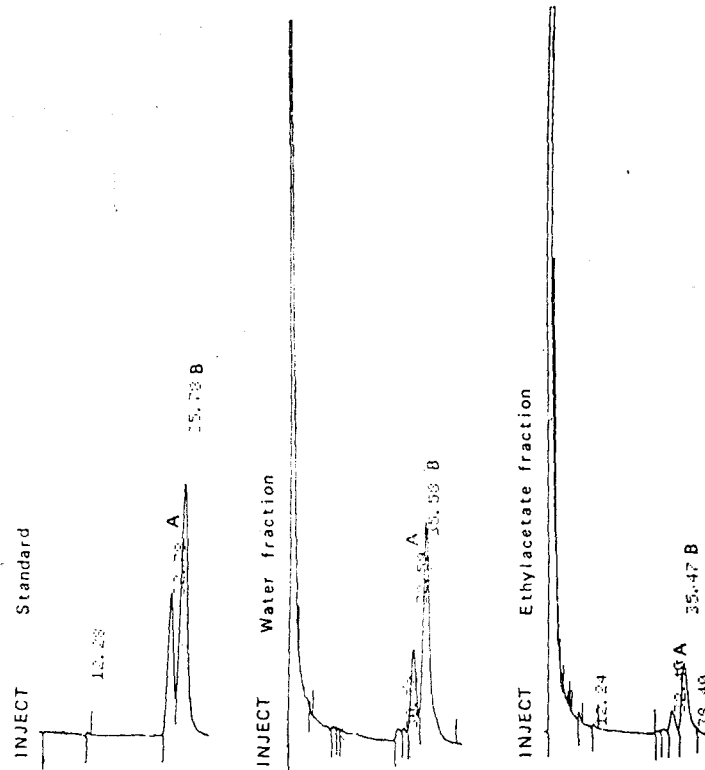


Fig. 1. Chromatogram of ephedrine alkaloids.

Conditions; column, NOVA-PAK C18(3.9 mm×15 cm). Mobile phase; CH₃CN : H₂O : SDS: phosphoric acid (30 : 70 : 0.5 : 0.1). Column temperature; 50°. Flow rate; 1.0 ml/min. Injection volume; 10 μ l. Detector; UV, 210 nm. Peaks; A—pseudoephedrine, B—ephedrine.

W분획 27.2 g(66.4%)을 얻었다.

각 분획에 대해 HPLC를 실시하여 얻은 chromatogram은 Fig. 1과 같으며 ephedrine 및 pseudoephedrine의 함량은 다음과 같다.

PE분획과 E분획에는 ephedrine과 pseudoephedrine이 미량 존재하였으며 EA분획에서는 pseudoephedrine 0.69%, ephedrine 2.53%, W분획에는 pseudoephedrine 3.34%, ephedrine 9.21%로 W분획이 높은 ephedrine 알카로이드 함량을 나타내었다.

체중 및 장기중량에 미치는 영향

1) 체중변화에 미치는 영향

투여기간별로 보면 5일 투여군에서는 negative control (NC)군이 체중증가율 14.48±0.47로 positive control (PC)군 8.57±0.94에 비하여 높으며 실험군 중 PE I (11.04±0.07), PE II (14.75±1.22), EA I (14.25±1.13)이 PC군에

비하여 높은 체중증가율을 보였다. 반면 E II (7.61±0.25), W I (7.10±0.19), W II (7.12±0.30)군이 PC군에 비하여 낮은 증가율을 보이고 있다. 10일 투여군에서는 NC군(19.17±0.87)이 PC(13.53±1.03)군에 비하여 높은 체중증가율을 보이며 PE II (14.43±0.58)군을 제외한 나머지 군은 PC군에 비해 낮은 체중증가율을 나타내었다. (Table I)

Ep 및 ϕ Ep투여군에서는 NC군이 7.72±0.97, PC군이 7.26±0.35의 체중증가율을 보였으며 Ep I은 1.72±1.31로 낮은 체중증가율을 나타내고 나머지군 즉, Ep II, ϕ Ep I, ϕ Ep II군은 각각 -0.02±1.79, -1.01±0.89, -1.17±0.72로 체중이 감소되었다. (Table III)

2) 장기중량에 미치는 영향

간장중량(%)은 각군간에 다소 차이는 있으나 유의성 있는 변화는 관찰되지 않았다. 비장중량

Table II. Effects of *Ma-huang* extract on organ weight in ICR mice

Group	Liver/Body weight(%)		Spleen/Body weight(%)		Thymus/Body weight(%)	
	Group A	Group B	Group A	Group B	Group A	Group B
NC	5.87±0.12	5.26±0.37	1.01±0.03	0.91±0.05	0.11±0.01	0.11±0.02
PC	5.52±0.23	5.87±0.10	1.08±0.04	1.03±0.05	0.08±0.01	0.10±0.01
PE I	6.06±0.41	5.90±0.41	0.96±0.08	1.16±0.09	0.12±0.01	0.11±0.01
PE II	5.84±0.24	4.95±0.05	0.96±0.08	1.07±0.12	0.12±0.01	0.10±0.01
E I	5.73±0.21	5.29±0.26	0.95±0.03	0.85±0.07	0.09±0.02	0.10±0.01
E II	5.42±0.25	4.95±0.05	0.89±0.01	0.91±0.06	0.11±0.01	0.13±0.01
EA I	5.51±0.11	5.15±0.24	0.85±0.08	0.93±0.10	0.11±0.01	0.11±0.01
EA II	5.41±0.18	5.53±0.19	0.93±0.08	0.82±0.04	0.10±0.01	0.11±0.02
W I	4.77±0.14	4.93±0.14	0.90±0.03	0.92±0.07	0.10±0.01	0.10±0.01
W II	5.56±0.26	5.03±0.19	0.89±0.04	0.89±0.03	0.11±0.01	0.13±0.01

a) Same as described in Table I.
 b) Each value is mean±S.E. of 4~5 mice.

Table III. Effects of ephedrine, pseudoephedrine on body weight and organ weight in ICR mice

group	Body weight(%)	Liver/B.W.(%)	Spleen/B.W.(%)	Thymus/B.W.(%)
NC	28.60±1.00 ^{a)} (7.72±0.97) ^{b)}	5.45±0.03	1.07±0.07	0.07±0.01
PC	28.45±0.49 (7.26±0.35)	5.36±0.18	1.06±0.06	0.07±0.01
Ep I ^{c)}	28.15±0.05 (1.72±1.31)	5.17±0.11	0.77±0.09	0.09±0.01
Ep II	28.80±0.66(-0.02±1.79)	5.38±0.08	0.82±0.06	0.09±0.01
φEp I	28.70±0.29(-1.01±0.89)	5.10±0.05	0.84±0.07	0.08±0.01
φEp II	28.35±0.50(-1.17±0.72)	5.34±0.12	0.96±0.08	0.10±0.01

a) Each value is mean±S.E. of 4~5 mice.
 b) The number in parenthesis is weight gain(%)
 c) Ep, φEp: Ephedrine or pseudoephedrine were injected i.p. for 1 day prior to sensitization. I, (25 mg/kg). II, (50 mg/kg).

(%)은 control군이 5일 투여와 10일 투여시 NC는 각각 1.01±0.03, 0.91±0.05이고, PC는 각각 1.08±0.04, 1.03±0.05로 유의한 차이는 없었으며 control군에 비해 다른 군은 전체적으로 감소되었다. 흉선의 중량(%)은 시료투여군이 control군에 비해 전체적으로 증가되는 경향을 관찰할 수 있었다. (Table II)

Ep 및 φEp 투여군에서는 간장중량(%)은 유의한 변화는 인정되지 않았으며 비장중량(%)은 control군이 PC 1.06±0.06, NC 1.07±0.07로 나타났고 다른 군은 이에 비해 감소되었다. 흉선중량(%)은 Ep, φ Ep투여군이 control군에 비해 다소의 증가경향을 보였다. (Table III)

접촉성 지연형과민반응에 미치는 영향
 DNFB에 의해 감각 및 유도된 이중창치는 PC

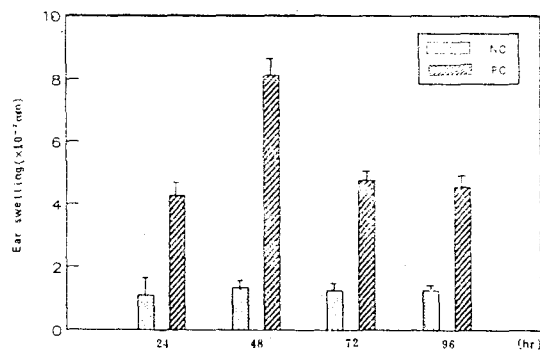


Fig. 2. Contact hypersensitivity of ICR mice. Positive control group(sensitization and challenge) and negative control group (challenge only) with DNFB as measured by in vivo ear swelling. Bars represent mean ear swelling of 4~5 mice in Group A after challenge.

군에 있어서는 Group A의 경우 유도후 24시간에 $(4.26 \pm 0.35) \times 10^{-2}$ mm, 48시간에 $(8.12 \pm 0.49) \times 10^{-2}$ mm, 72시간에 $(4.74 \pm 0.26) \times 10^{-2}$ mm, 96시간에 $(4.54 \pm 0.33) \times 10^{-2}$ mm를 나타내었다. 한편 acetone : olive oil (4 : 1) 용매만으로 감각시킨 4일후, 耳前面에 0.2% DNFB 용액을 점적하여 유도시켰던 NC군의 이중창치는 24시간에 Group A에서 $(1.10 \pm 0.63) \times 10^{-2}$ mm,

48시간에 $(1.34 \pm 0.16) \times 10^{-2}$ mm 72시간에 $(1.25 \pm 0.19) \times 10^{-2}$ mm, 96시간에 $(1.25 \pm 0.14) \times 10^{-2}$ mm를 나타냄으로써 현저한 차이를 보이고 있다. Group B와 C에서도 비슷한 양상의 결과를 나타내었다. (Table IV, Fig. 2)

과민반응은 Type I~Type IV³⁴⁾로 구분되는데 Type I은 B-cell에 의한 즉시형과민반응이며 Type IV는 감각 T-cell에 의한 lymphocaine

Table IV. Effects of *Ma-huang* extract, ephedrine and pseudoephedrine on CDTH in ICR mice

Group	1	4	24	48	72	96(hr)
Normal	-1.12 ± 0.10	1.03 ± 0.12	0.81 ± 0.31	1.21 ± 0.15	1.15 ± 0.17	1.10 ± 0.21
(Group A)						
NC	-1.00 ± 0.13	-0.92 ± 0.26	1.10 ± 0.63	1.34 ± 0.16	1.25 ± 0.19	1.25 ± 0.14
PC	-1.24 ± 0.20	-0.96 ± 0.10	4.26 ± 0.35	8.12 ± 0.49	4.74 ± 0.26	4.54 ± 0.33
PE I	-1.28 ± 0.08	-1.26 ± 0.08	4.22 ± 0.16	8.80 ± 0.32	4.46 ± 0.68	$**3.50 \pm 0.84$
PE II	-1.03 ± 0.20	-1.18 ± 0.12	4.60 ± 0.29	8.52 ± 0.30	$**6.12 \pm 0.38$	4.34 ± 0.45
E I	-1.02 ± 0.80	-0.92 ± 0.08	$**2.94 \pm 0.87$	$**5.14 \pm 0.50$	$**3.94 \pm 0.18$	4.54 ± 0.34
E II	-0.83 ± 0.06	-0.88 ± 0.08	$*3.30 \pm 0.48$	8.72 ± 0.60	$**8.14 \pm 0.39$	$**7.04 \pm 0.29$
EA I	-0.94 ± 0.10	-0.98 ± 0.09	$**2.08 \pm 0.16$	$**6.64 \pm 0.49$	5.40 ± 0.87	4.60 ± 0.62
EA II	-1.30 ± 0.14	-1.02 ± 0.17	$**3.25 \pm 0.17$	$**5.04 \pm 0.44$	4.45 ± 0.43	4.05 ± 0.57
W I	-1.10 ± 0.21	-1.22 ± 0.15	3.86 ± 0.28	$**4.32 \pm 0.34$	$**3.66 \pm 0.45$	5.00 ± 0.15
W II	-0.74 ± 0.33	-0.76 ± 0.28	4.54 ± 0.32	$**5.90 \pm 0.66$	$*5.48 \pm 0.36$	$**4.98 \pm 0.24$
(Group B)						
NC	-0.86 ± 0.60	-0.92 ± 0.05	1.36 ± 0.06	1.10 ± 0.15	1.14 ± 0.10	1.02 ± 0.12
PC	-0.84 ± 0.17	-0.82 ± 0.09	7.28 ± 0.62	9.54 ± 0.72	7.74 ± 0.61	6.90 ± 0.46
PE I	-0.16 ± 0.07	-1.20 ± 0.17	6.94 ± 0.65	9.82 ± 0.67	8.66 ± 0.55	7.54 ± 0.34
PE II	-0.76 ± 0.19	-0.40 ± 0.24	8.30 ± 1.10	$**12.00 \pm 1.05$	$**10.10 \pm 0.86$	$**9.20 \pm 0.41$
E I	-1.00 ± 0.14	-1.02 ± 0.13	8.40 ± 0.29	9.76 ± 0.49	8.62 ± 0.50	6.92 ± 0.49
E II	-0.96 ± 0.07	-0.90 ± 0.06	$*6.00 \pm 0.47$	10.70 ± 0.72	7.50 ± 0.53	6.40 ± 0.71
EA I	-1.02 ± 0.07	-0.96 ± 0.07	$**4.42 \pm 0.21$	$**6.30 \pm 0.37$	$**4.90 \pm 0.40$	$**3.96 \pm 0.32$
EA II	-1.00 ± 0.10	-1.14 ± 0.10	$*6.20 \pm 0.37$	8.80 ± 0.50	8.10 ± 0.51	7.10 ± 0.40
W I	-0.86 ± 0.12	-1.00 ± 0.14	$**5.34 \pm 0.64$	$**6.50 \pm 0.81$	$**6.25 \pm 0.97$	$**5.00 \pm 0.66$
W II	-0.74 ± 0.19	-0.72 ± 0.18	$*5.08 \pm 0.74$	$**7.26 \pm 0.31$	$**6.40 \pm 0.29$	$**5.52 \pm 0.13$
(Group C)						
NC	-1.80 ± 0.26	-0.67 ± 0.22	0.70 ± 0.17	1.17 ± 0.27	1.82 ± 0.23	0.95 ± 0.19
PC	-0.30 ± 0.39	-0.16 ± 0.41	6.54 ± 0.63	8.54 ± 0.48	7.56 ± 0.52	6.68 ± 0.69
Ep I	-1.80 ± 0.10	-1.17 ± 0.17	$**2.17 \pm 0.60$	$**4.23 \pm 0.15$	$**3.57 \pm 0.23$	$**3.23 \pm 0.43$
Ep II	-1.40 ± 0.25	-0.94 ± 0.30	$**1.64 \pm 0.34$	$**2.52 \pm 0.42$	$**2.20 \pm 0.40$	$**2.10 \pm 0.37$
ϕ Ep I	-1.70 ± 0.15	-1.09 ± 0.14	$**1.59 \pm 0.29$	$**2.51 \pm 0.23$	$**1.90 \pm 0.23$	$**1.19 \pm 0.27$
ϕ Ep II	-1.40 ± 0.16	-0.46 ± 0.36	$**1.51 \pm 0.39$	$**2.71 \pm 0.29$	$**2.23 \pm 0.32$	$**2.01 \pm 0.36$

Ear swelling test (EST) ($\times 10^{-2}$ mm).

a) Same as described in Fig. 2.

b) Each value is mean \pm S.E. of 4~5 mice.

c) Significantly different from positive control(PC) group. *($p < 0.05$) **($p < 0.01$)

Table V. Effects of *Ma-huang* extract on the titers (log₂)

group	Group A ^{a)}		Group B	
	HA	HE	HA	HE
Normal ^{c)}	0	0	0	0
PC	10.00±0.71 ^{b)}	7.33±0.33	9.80±0.66	7.25±0.48
PE I	10.00±0.58	5.75±0.48 ^{d)**}	10.00±0.55	6.40±0.24*
PE II	11.50±1.19	7.50±0.87	6.60±0.51**	3.50±0.29**
E I	11.50±0.87*	8.50±0.29**	11.00±0.45*	6.50±0.29*
E II	11.00±0.95	6.60±0.24**	9.80±0.74	6.50±0.29*
EA I	7.50±0.65**	4.75±0.63**	9.60±0.24	6.00±0.41**
EA II	5.60±0.40**	3.80±0.37**	5.00±0.58**	3.00±0.58**
W I	8.25±0.85**	5.33±0.33**	6.50±0.29**	2.80±0.37**
W II	6.20±0.20**	4.00±0.55**	7.20±0.37*	5.50±0.65**

a) Same as described in Table 1.

b) Each value is mean±S.E. of 4~5 mice in log₂ unit.

c) No immunization group.

d) Significantly different from positive control(PC) group. *(p<0.05) ***(p<0.01).

등의 유리에 기인하는 세포매개형의 지연형과민 반응이다. 지연형과민반응은 면역된 항원에 대하여 수용체를 갖는 특이임파구 집단과 macrophage 등에 의해 야기되며 이중 접촉성 지연형과민 반응은 tuberculin type (dermal reaction)과는 달리 epidermal reaction으로 DNFB,²⁵⁻²⁷⁾ DNCB³⁵⁾ 등의 haptene이 epidermal cell protein과 결합함으로써 발현된다고 하며, 본 실험에서 DNFB에 의해 유발되는 CDTH는 PC군과 NC군간에 현저한 차이를 나타낼 수 있었다. 이는 DNFB에 의해 유발되는 CDTH는 PC군과 NC군간에 현저한 차이를 나타내어 인정되었다. 이는 DNFB에 의한 반응이 단순한 염증현상이 아니라 1차 감각후 동일항원이 재감작된 경우에만 일어날 수 있는 세포성 면역계의 지연형과민반응임을 시사하는 것이다.

시료액 및 Ephedrine, Pseudoephedrine 이 CDTH에 미치는 영향

마황이 접촉성 지연형과민반응에 미치는 영향은 Table IV에서 보는 바와 같이 PC군에 비하여 전체적으로 감소하는 경향을 나타내었다. 투여후 48시간에 모든 군에서 가장 높은 이중창치를 나타내었으며 5일 투여군의 경우 PE I, PE II, E II는 PC군 보다 오히려 약간 높은 이중창치를 나타내었으며 E I, EA I, EA II, W

I, W II는 유의성 있는 (p<0.01) 감소를 보였다.

10일 투여군에서는 PC군에 비해 PE I, E I, E II 군이 역시 약간 높은 경향을 보였고 EA I, W I, W II는 유의성 있는 (p<0.01) 감소를 보였다. Ep, ϕ Ep 투여군에서 이중창치를 측정 한 결과, PC군에 비해 전체적으로 감소를 나타내었다. 48시간에서 PC군과 비교해 볼 때 25 mg/kg을 투여한 경우 ϕ Ep I이 Ep I 보다 유의성 있게 감소되었으며 50 mg/kg을 투여한 경우는 Ep II와 ϕ Ep II 간에 큰 차이는 없으나 현저한 이중창치의 감소를 나타내었다.

한편 control군 및 시료투여군에서 모두 유도 후 1시간과 4시간에서 이중창치가 약간씩 감소되었으며, 이같은 현상은 용매만으로 감각, 유도조작을 한 normal군에서도 관찰되어 용매에 의한 일시적인 현상인 것으로 사료된다. (Table IV)

마황의 메탄올엑스를 4가지 분획으로 나누어 투여한 결과 HPLC분석에 의해 ephedrine함량이 높은 것으로 확인된 W분획에서 CDTH에 대해 가장 현저한 억제현상을 보였으며 실제로 Ep, ϕEp. 투여군에서 현저한 CDTH억제현상이 인정되었다. 이는 마황중 ephedrine알카로이드가 Type I의 즉시형 과민반응 뿐 아니라 Type II

Table VI. Effects of ephedrine, pseudoephedrine on the antibody titers (log2)

group	HA	HE
Normal ^{a)}	0	0
PC	10.25±0.85 ^{b)}	7.50±0.65
Ep I	7.00±0.41**	3.67±0.88**
Ep II	8.75±0.75**	4.00±0.71**
ϕEp I	8.40±0.40**	4.75±0.25**
ϕEp II	9.75±0.48**	5.33±0.88**

a) No immunization group.

b) Each value is mean±S.E. of 4~5 mice.

의 지연형 과민반응도 억제함을 알 수 있다.

적혈구 응집소(HA titer) 및 적혈구 용혈소(HE titer)에 미치는 영향

SRBC로 면역시키고 7일 후에 혈청을 분리하여 응집소 및 용혈소를 측정하였다. (Table V, Table VI) 적혈구응집 및 용혈반응은 체액성 면역반응중 T-dependent antigen에 대한 면역항체의 양을 나타내는 지표로서 혈액중 면역항체의 消長을 측정하는데 널리 사용되고 있다.

1) 응집소

5일 투여군에서 PC는 100.00±0.7을 나타내었고 E I 이 11.50±0.87로 유의성 있게 ($p < 0.05$) 증가되었으며 EA I (7.50±0.65) EA II (5.60±0.40), W I (8.25±0.85), W II (6.20±0.20)군이 $p < 0.01$ 의 현저한 감소현상을 나타내었다.

10일 투여군에서는 PC가 9.80±0.66을 나타냈고 E I 이 11.00±0.45로 유의성 있게 ($p < 0.05$) 증가하였으나 PE II (6.60±0.51), EA II (5.00±0.58), W I (6.50±0.29), W II (7.20±0.37)는 오히려 유의성 있게 ($p < 0.01$) 감소되었다. Ep, ϕ Ep 투여군을 보면 PC 10.25±0.85에 비하여 Ep I, Ep II, 및 ϕEp I ϕEp II 모두 유의성 있게 감소하는 경향을 나타내었다.

2) 용혈소

5일 투여군에서 PC는 7.33±0.33이고 E I 만이 8.50±0.29로 유의한 증가($p < 0.01$)를 보였고 나머지군은 모두 $p < 0.01$ 의 유의성 있는 ($p < 0.01$) 감소현상을 나타내었다. 10일 투여군에서는 모든 실험군의 용혈소가가 PC군에 비해 유

의성 있는 감소를 보였다.

결 론

마황은 한방처방의 allergy성 질환에 인용되고 있는 바 세포성 및 체액성 면역반응에 미치는 영향을 관찰하기 위해 세포성면역반응으로는 접촉성 지연형과민반응, 체액성면역반응으로 면역적혈구에 대한 응집소와 용혈소를 측정하였다.

1. 마황의 메탄올엑스에서 얻은 분획에 함유되어 있는 ephedrine과 pseudoephedrine량을 측정하였다. 즉 ether분획과 petroleum ether분획에는 미량 함유되어 있으며 ethylacetate분획에서는 pseudoephedrine 0.69%, ephedrine 2.53%, water분획에서는 pseudoephedrine 3.34%, ephedrine 9.21%를 나타내었다.

2. 마황의 메탄올엑스 5일 투여군에서는 ether분획 100 mg/kg 투여군(E II)과 water분획 투여군(W I, W II)이 10일 투여군에서는 petroleum ether 분획 100 mg/kg 투여군(PE II)을 제외한 나머지군이 대조군에 비하여 낮은 체중증가율을 보였다. 한편 ephedrine 25 mg/kg 투여군(Ep I)은 낮은 체중증가율을 보이고 ephedrine 50 mg/kg 투여군(Ep II), pseudoephedrine 25 mg/kg, 50 mg/kg 투여군(ϕ Ep I, ϕ Ep II)은 체중이 감소되었다.

3. 각 분획 투여군, Ep, ϕ Ep 투여군의 장기의 중량변화는 대조군과 별다른 차이가 인정되지 않았으나 비장의 중량은 전반적으로 감소되었고 흉선의 중량은 증가경향을 나타내었다.

4. 마황의 메탄올엑스중 EA, W분획 투여군과 Ep, ϕ Ep 투여군에서 DNFB에 의해 발현된 이종창치가 현저히 감소되었다.

5. SRBC에 대한 항체가 측정에서 용혈소가 전체적으로 감소되었고 응집소가는 EA와 W 분획 투여군과 Ep, ϕ Ep 투여군에서 감소경향을 보였다.

이상과 같이 마황의 메탄올엑스를 petroleum ether 분획, ether분획, ethylacetate분획, water 분획으로 나누어 실험한 결과 ethyl acetate분획

과 water분획이 세포성 및 체액성 면역반응에 대해 억제적으로 작용하는 것으로 나타났으며, 이것은 마황중의 알카로이드 성분인 ephedrine 및 pseudoephedrine의 약리작용에 기인하는 것으로 사료된다.

〈1991년 4월 30일 접수 : 5월 2일 수리〉

문헌

1. *Directory of Chinese Meatra Medica*, (Zhong Yao Da Ci Dian or 中藥大辭典) ed. by Jianusu New Medical College, Shanghai Scientific Technological Publisher, Shanghai, pp.244-2445 (1977).
2. 金最壽 : 표준본초학, 원광대 한의과대학, pp.132-135 (1975).
3. 개정판 현대생약학, 생약학연구회 著, 한국학습교재사, pp.292-294 (1985).
4. 漢藥의 藥理·成分·臨床應用, 登丑文化社, pp.306-309 (1982).
5. Nawwar, M.A.M., Barakat, H.H., Buddrus J. and Linscheid: *Phytochem.* 24, 878-879 (1985).
6. Konno, C., Mizuno T. and Hikino H.: *Planta Medica* 162 (1985).
7. Mitsura Tamada, Katsuya Endo, Hiroshi Hikino and Chizuko Kabuto: *Tetrahedron Lett.* 10, 873-876 (1979).
8. 일본약국방 해설서(제11개정), 日本公定書協會, 廣川書店, D906--D910 (1986).
9. 加藤 幸子, 田邊 良久 : 마황중의 총 alkaloid의 간이정량, *Bunseki Kagaku* 33, T61 (1984).
10. 山崎和男 : 麻黃의 研究, 生藥分析, 55 (1977).
11. Takaishi, K., Kuwajima, H., Tokuda, T., Endo, M., Orita H. and Tsuji K.: *Shoyakugaku Zasshi* 36, 245 (1982).
12. Yamasaki, K., Fujita, K., Sakamoto, M., Okada, K., Yoshida, M. and Tanaka, O.: *Chem. Pharm. Bull.* 22, 2898 (1974).
13. Yamasasaki, K. and Fujita, K.: *Chem. Pharm. Bull.* 27, 43 (1979).
14. Yamagishi, T. and Honma, S.: *Hokkaidoritsu Eisei Kenkyushoho* 30, 6 (1980).
15. 人見信之, 清水袈裟光, 山本惠一, 三浦治, 弓岡榮三郎 : 고속액체크로마토그래피에 의한 漢方製劑의 品質管理, *Bunseki Kagaku.* 35, 202-206 (1986).
16. Sagara, K., Oshima, T. and Misaki. T.: *Chem. Pharm. Bull.* 31, 2359 (1983).
17. Noguchi, M., Hosoda, K. and Suzuki, H.: *Yakugaku Zasshi* 107, 372 (1987).
18. Moriyasu, M., Endo, M., Kanazawa. R.: *Chem. Pharm. Bull.* 32, 744 (1984).
19. 山崎, 和男 : *Wakan Iyaku Gakkaishi* 2, 93 (1985).
20. Konno, C., Taquchi T., Tamada, M., Hikinn, H.: *Phytochem.* 18, 697 (1979).
21. Hikino. H., Konno, C., Takata, H., Tamada, M.: *Chem. Pharm. Bull.* 28, 2900 (1980).
22. 江田, 昭英, 勝田, 榮二, 渡邊, 茂勝 : 日藥理誌, 66, 366 (1970).
23. Kasahara, Y., Hikino, H., Tsurufuji, S., Watanabe, M., Ohuchi, K.: *Planta Medica* 4, 325 (1985).
24. Adachi, I., Yasuta, A., Matsubara, T., Ueno, M., Terasawa, K., Horikoshi, I.: *Yakugaku zasshi* 104, 959-965 (1984).
25. Phanuphak, P., Moorhead, J.W. and Claman, H.N.: *J. of Immuno.* 112, 115-123 (1974).
26. Claman, H.N. and Miller, S.D.: *J. of Immunol.* 117, 480 (1976).
27. Phanuphak, P., Moorhead, J.W. and Claman, H.N.: *J. of Immunol.* 112, 849 (1974).
28. Miller, S.D., Sy, M. and Claman, H.N.: *J. of Immunol.* 121, 265 (1978).
29. Sy, M., Miller, S.D., Kowach H.B. and Claman, H.N.: *J. of Immunol.* 119, 2995 (1977).
30. Sy, M., Miller S.D. and Claman, H.N.: *J. of Immunol.* 121, 274 (1978).
32. 金在燮 : 십전대보탕 煎湯액기스가 생쥐의 세포성 및 체액성면역반응에 미치는 영향, 원광대학교 대학원(1984).
33. Ha, T.Y. and Chung, H.T.: 대한의학협회지 20, 285 (1977).
34. Roitt, Brostaff, Male: *Immunology.* Gower Medical Publishing 19.1 (1985).
35. 은희철, 김경애 : 대한피부과학회지 24, 781-786 (1986).