

桂薑棗草黃辛附湯의 抗알레르기 作用에 對한 研究

白 晷 龍* · 權 永 達* · 朴 寬 夏*** · 柳 道 坤** · 宋 勇 善*

ABSTRACT

Studies on the Antiallergic Action of Gegangjochohwangsinbutang

Gyong-Lyong Baek*, Young-Dal Kwon*, Kwan-Ha Park***, Do-Gon Ryu**, Yong-Sun Song*

*Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine

**Dept. of Physiology, college of oriental medicine, Won-kwang Univ, Iksan.

***Dept. of Fish Pathology, college of Ocean Science of Technology, Kunsan National Univ.,
Kuuson, Korea

Antiallergic action and the effect on normal immune function of an oriental medical prescription *Gegangjochohwangsinbutang* (GJHB) water extract were examined in several experimental models.

GJHB water extract at 600-1,800 mg/kg/day administered orally for one week significantly reduced the passive cutaneous anaphylaxis in rats in a dose-dependent manner. Whereas the extravasation induced by intradermal leukotriene D₄ in rats was significantly inhibited by GJHB water extract at 600-1,800 mg/kg/day, po, for one week, but that by histamine or serotonin was not influenced. In a rat asthma model, the delayed airway resistance in ovalbumin-induced asthmatic response was significantly attenuated by GJHB water extract of 1,800 mg/kg/day, po, administered for one week. It was also found that GJHB water extract at 1 mg/kg concentration *in vitro* relaxed the isolated guinea pig trachea contracted by leukotriene D₄, but not that by histamine.

* 원광대학교 한의과대학

** 원광대학교 한의과대학 생리학 교실

*** 군산대학교 해양과학대학

The above findings indicate that GJHB water extract can ameliorate the adverse effect of type I allergy such as asthma. This pharmacological action seems to derive from an inhibition of GJHB water extract on leukotriene D4-related physiological change.

Key Word : GJHB, passive cutaneous anaphylaxis leukotriene D4, histamine

I. 緒 論

알레르기란 生體가 동일한 抗原에 반복 접촉 됨으로써 그 항원에 대해 최초에는 나타나지 않았던 異常反應을 일으키는 상태로 항원 - 항체 반응의 결과 야기되는 전신적, 국소적 組織傷害 반응을 말한다¹⁻⁴⁾.

사회가 산업화되고 환경오염 및 각종 화학물질의 사용이 늘어남에 따라 알레르기성 질환 비율도 점차 증가하는 추세이다.⁵⁾ 그러나 항히스타민제, 스테로이드제 등이 주류를 이루는 기존의 치료제들은 상당한 부작용과 아울러 복잡 다양한 알레르기 기전^{6,7)}에 복합적으로 작용하지 못하는 단점을 지니고 있어, 부작용이 없는 천연물에 대한 연구개발이 시급하다고 본다.⁸⁻¹¹⁾

桂薑棗草黃辛附湯은 張仲景의 金匱要略¹²⁾에 記載된 處方으로 “氣分心下堅, 大如盤, 邊如旋杯, 水飲所作”을 主 適應症으로 삼고,¹³⁾ 營衛나 氣血이 寒에 의해 沮止되고 調和가 喪失된 경우 이를 調和시키고 氣가 心下에 凝해서 막혔을 때 氣分을 疏通시키는 작용이 있다. 또는 諸病이 痼疾이 되어 치료할 길이 없을 경우 이를 一轉시켜 打開하려는 의도로 응용되며 神經痛, 류머티즘, 腰痛, 感冒, 半身不隨, 老人의 寒冷咯痰 등의 증상에 활용된다.^{14,15)}

本 處方과 관련된 藥物에 對한 研究로 金¹⁶⁾ 등의 “桂枝湯 加味方의 알레르기 鼻炎에 對한 治驗報告” 등과 李¹⁷⁾의 麻黃附子細辛湯의 喘息에 대한 임상응용, 桂薑棗草黃辛附湯이 水腫, 喘息, 鼻炎 등의 증상에 응용되는 점¹⁷⁻¹⁹⁾, 桂枝, 麻黃,

細辛, 大棗, 甘草, 附子등 구성약물들의 항알레르기 작용과 약리작용³⁵⁾ 등의 報告로 보아 본 처방이 알레르기 작용의 기전과 발현에 영향을 미칠 것으로 사료되어 본 실험에 임하게 되었다.

이에 著者는 桂薑棗草黃辛附湯을 대상으로 여러 알레르기 model에서의 藥效를 확인하고 anaphylaxis 반응에 관여한다고 알려진 mediator 들, 즉 histamine²⁰⁾, leukotriene²¹⁾ 및 5-serotonin²²⁾ 등의 작용 遮斷 효과를 검토함으로써 機轉을 밝히고자 시도하여 有意한 결과를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗動物 및 藥材

1) 實驗動物

Sparague-Dawley rat는 Specific-Pathogen Free(SPF)의 상태로 대한실험동물에서 구입하여 사육하면서 사용하였다. Hartley guinea pig는 conventional 상태의 동물로 역시 대한실험동물에서 구입하여 사육하였다. Wistar rat은 일본 B & K에서 구입하여 사용하였으며 모든 동물은 21±2℃의 온도와, 55±5%의 습도로 1일 12시간 조명조건에서 사육하였다. 사료(제일제당) 및 물(수도수)은 충분히 공급하였다.

2) 藥材 및 試藥

(1) 藥材

본 실험에 사용한 藥材는 規格集²³⁾에 의거 圓光大學校 韓醫科大學 附屬 益山韓方病院에서 구입, 精選하여 사용하였고, 處方內容과 用量은 다음과 같다.

韓藥名	生藥名	重量(g)
桂枝	Ramulus cinnamomi	3
大棗	Fructus zizyphijujubae	3
甘草	Radix glycyrrhizae	2
麻黃	Herba ephedrae	2
細辛	Radix asari	2
生薑	Rhizoma zingiberis	1
附子	Radix aconiti	1
Total Amount		14

(2) 試藥

Histamine dihydrochloride, serotonin creatinine sulfate, turkey egg albumin (Grade VI) 및 turkey egg albumin, Evans blue, gallamine triethiodide 등은 Sigma (St. Louis, USA)에서, Pertussis antigen은 Difco Lab. (Detroit, Michigan, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 實驗方法

1) 檢液의 製造

桂薑棗草黃辛附湯 15貼 分量인 210 g에 蒸溜水 1900 ml를 넣고 冷却器를 設置한 후 180分間 加熱하였다. 抽出된 煎湯液을 4겹의 거즈로 濾過한 후 3,200 rpm으로 20分間 遠心分離하고 그 上清液을 眞空濃縮器로 減壓濃縮한 후 freeze dryer로 凍結乾燥하여 26.24 g의 분말을 얻었다.

2) Rat에서의 IgE 생산

Ovalbumin (Grade IV, Sigma) 1 mg/rat과 Pertussis antigen (Difco) 0.7 ml/rat를 근육내와 복강으로 각각 투여하고 12일 후 복대동맥으로 채혈하여 혈청을 분리하여 사용하였다. 이 혈청의 PCA역가를 측정하고 Evans blue의 확산 직경이 10-20 mm사이가 되는 농도로 희석하여 사용하였다.

3) 수동피부감작시험(PCA)

Wistar rat에서 제조된 혈청은 Wistar rat (180~230g)의 등털을 깎고 4부위에 2배계열 희석한 혈청(인산완충 생리식염수에 희석, pH 7.4) 0.1 ml씩을 피내투여하고 48시간 후 ovalbumin 5 mg을 0.5 ml의 saline에 용해(1%)한 Evans blue와 혼합하여 꼬리정맥으로 투여하였다. Ovalbumin투여 30분후 피부를 박리하고 Evans blue의 확산직경을 측정하였다.

4) 피부혈관확장물질의 투여에 의한 Evans blue삼출억제 시험

Histamine (10 µg/ml), serotonin (10 µg/ml) 및 leukotriene D₄ (5 µg/ml)로 조제한 용액 0.1 ml를 털을 깎은 웅성 Sprague-Dawley rat (200-250 g)의 배부 피내에 투여하고 즉시 Evans blue를 10 mg/rat으로 saline에 용해하여 꼬리정맥내로 투여하였다. 30분 후 동물을 마취 희생시키고 피부를 박리하여 Evans blue의 확산직경 및 조직중의 Evans blue양을 측정하였다.

5) 피부에서의 Evans blue 색소 정량

PCA반응을 유발한 rat에서 Evans blue의 침출량을 측정함으로써 단순히 색소침출의 직경을 측정하는 이외에도 조직내에 존재하는 색소의 양을 측정하여²⁴⁾ 정량적으로 항알레르기 효과를 검색하고자 실시하였다. Evans blue의 배부 피부혈관의 삼출 직경을 측정후 가위로

잘게 절개하여 plastic test tube에 넣고 1N-KOH 1 ml를 가하여 37°C로 20시간 incubation 함으로써 조직을 완전히 용해하였다. 1.2 N H₃PO₄ 0.7 ml를 가하여 용액을 중화시킨 후 3.3 ml의 acetone을 가하고 vortexing함으로써 조직을 침전시켰다. Refrigerated centrifuge (Mega-fuge Heraeus)로 2 °C에서 400xg에서 25분간 원심분리하여 침전물을 제거하였다. 상층액을 620 nm에서 흡광도를 측정함으로써(UV-1601PC, Shimadzu) 조직내의 Evans blue의 양을 정량하였다. 따로 10-120 µg/ tissue의 standard curve를 만들어서 Evans blue의 조직내 양을 계산하였다. 이 추출법에 의한 recovery는 94-97%로 변화가 거의 없었기 때문에 계산시 recovery는 무시하였다.

6) Wistar rat mast cell에서의 histamine 유리시험

Wistar rat (200-250 g)에 Tyrode용액(NaCl 137 mM, KCl 2.7 mM, CaCl₂ · 2H₂O 1 mM, NaH₂PO₄ 0.4 mM, NaHCO₃ 12 mM, glucose 5.5 mM, heparin 5 units, pH=7.4) 30 ml를 복강내로 투여하고 2분간 마사지하였다. 복강액을 취해 가제로 거르고 150xg로 4분간 실온에서 원심분리하였다. 세포액을 heparin이 없는 Tyrode용액으로 2번 씻어서 세포를 부유시켰다. 0.5 ml (세포수 5.4x10⁴ cell/ml 정도)씩 나누어서 37°C로 가온하여 10분간 안정화 시켜서 histamine releaser인 Compound 48/80 및 A23187을 각각 0.5 µg/ml와 0.1 µM의 농도로 넣고 10분간 incubation 하였다. Histamine유리 반응은 시험관을 얼음으로 냉각하여 중단하고 150xg (4 °C)에서 5분간 원심분리하여 supernatant와 pellet을 분리하였다. Pellet에 1.5 ml의 Tyrode용액을 넣고 perchloric acid를 0.4 N이 되도록 넣었다. Histamine은 Shore법²⁵⁾에 따라 유기층-수층의 추출을 통해 추출하고 0.005% o-phthaldehyde 0.6 ml를 가해 교반하고 빙수에

서 40분간 방치하면서 반응을 진행하였다. 0.125 M의 인산액 1 ml를 가해 반응을 정지한 후 실온에서 20분간 방치하였다. 반응생성물의 농도는 야기파장 360 nm, 측정파장 450 nm에서의 형광강도를 측정하였다. 표준액은 0, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3 및 1 µg/ml를 사용하여 동일한 방법으로 반응하였다. 유리양은 약물을 가하지 않고 실험한 tube에서의 반응을 100%로 하고 상대적인 저해정도를 계산하였다.

7) 적출기관지 수축에 대한 이완작용 시험

Guinea pig를 ether로 흡입 마취하고 복대동맥을 통해 방혈치사한 후 경부의 피부를 일직선으로 절개하였다. 기관지를 주의 깊게 절개하고 표본당 기관지의 4-5개 연골 ring이 포함되도록 잘라 ring을 개환하여 silk로 2개의 표본을 연결하였다. 양측을 cell pin으로 고정하고 Krebs-Henseleit 용액(pH 7.4, 37°C)이 포함된 13 ml의 organ bath에 현수하였다. 기본장력을 1 g으로 유지하여 안정화시킨 뒤 indomethacin을 5 µM의 농도로 가하여 cyclooxygenase를 차단한 후 histamine 10 µM 또는 leukotriene D₄ 5 nM로 수축을 유도하였다. 수축작용이 안정화 된 후 시료를 누적적으로 가해 시험 물질이 수축력을 감소시키는 정도를 측정하였다. 장력의 변화를 isometric transducer로 측정하였다.

8) 실험적 기관지 천식 model

웅성 Wistar rat (300-320 g)에 ovalbumin을 항원(100 µg/rat)으로 백일해 사균(1x10¹⁰ cells)을 adjuvant로 하여 복강내 투여하여 감작시켰다. 5일 후 ovalbumin을 100 µg/rat추가 투여하여 감작하고 최초 투여 8일 후 titer를 결정하였을 때 titer가 128 이상인 동물을 시험에 사용하였다. 시험은 최초투여 후 10일째에 동물을 pentobarbital sodium로 (50 mg/kg, ip) 마취하

고 기관 cannula를 삽입하였다. 기관 cannula에 삼지tube를 연결한 뒤 한쪽은 rodent respirator에, 또 한쪽은 bronchospasm transducer에 연결하여 압력변화를 측정하였다²⁶⁾. 근육이완을 목적으로 gallamine triethiodide를 10 mg/kg (iv)용량으로 천식유발 직전 투여하고 인공호흡기로 실내공기를 60 stroke/min의 속도로 1 ml/100 g (b.w.)의 양으로 연속적으로 공급하였다. 천식유발을 위해 경정맥에 삽입된 cannula로 항원(ovalbumin 5 mg/rat)을 정맥내 투여하였다. 이 때 나타나는 기관지 압의 변화를 physiography로 기록하였다. 약물을 투여한 군과 투여하지 않은 군의 기관지압 상승의 정도를 비교하였으며 시험물질은 시험전 1주일간 1일 1회 경구투여하였다.

9) 알레르기성 rat 비염 model

웅성 Wistar rat (300-320 g)에 ovalbumin를 항원(100 μ g/rat)으로 백일해 사균(1×10^{10} cells)을 adjuvant로 하여 복강내 투여하여 감작시켰다. 5일 후 ovalbumin을 100 μ g/rat 추가 투여하여 감작하고 최초 투여 8일 후 titer를 결정하였을 때 titer가 128 이상인 동물을 시험에 사용하였다. 동물을 pentobarbital sodium (50 mg/kg, ip)로 마취하고 기관지에 cannula를 삽입하여 자발적으로 호흡할 수 있도록 하였다.

Polyethylene tubing (PE-20)을 비강으로 삽입하고 식도는 절찰한다. 이 cannula에 perfusion pump를 장착하고 saline을 0.25 ml/min의 속도로 관류하여 콧구멍 방향에서 유출되는 관류액을 10분간격으로 채취하여 blank로 사용하였다. 1% Evans blue용액을 정맥으로 투여하고 (0.5 ml/100 g) 10 분 후 ovalbumin을 정맥내로 투여(5 mg/kg)하고 10분간 관류액을 채취하여 각각의 경우의 Evans blue 침출액의 양을 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 정량은 Evans blue가 나타내는 흡광도의 차이로 비교하였다. 시험물질은 시험전 1주일간 1일 1회 투여하였

다.

10) 통계처리

모든 data는 평균 \pm SEM으로 표현하였으며 대조군과의 차이는 unpaired t-test를 사용하여 검정하고 $p < 0.05$ 일 때 두 군의 평균값의 차이에 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

III. 實驗成績

1. Rat homologous PCA 반응에 미치는 영향

Rat PCA는 IgE에 의해 유발되는 Type I 알레르기에 대한 약효를 검색하기 위해 사용되는 전형적인 model로서 Wistar rat에서 생산한 Ovalbumin (OVA)에 대한 혈청을 새로운 rat의 배부 피내에 투여하여 수동적으로 감작시킨 후 48시간에 항원인 OVA (Ovalbumin) 및 색소인 Evans blue를 정맥내로 투여하여 anaphylaxis 반응의 정도를 측정하였다. 시험약제인 桂薑棗草黃辛附湯을 200, 600 및 1,800 mg/kg의 용량으로 반응야기전 1주일간 1일 1회 총 7회투여한 후의 약효를 측정하였다. Evans blue의 확산직경을 측정한 결과 Evans blue 확산 반경이 600 mg/kg에서 미약하게 감소, 1800 mg/kg에서는 현저하게 감소하였으며 200 mg/kg는 거의 효과가 없었다(Figure 1). 한편 배부조직을 분리하고 주사부위에 삼출된 Evans blue의 양을 측정된 결과 조직으로 삼출된 Evnas blue의 양도 조직의 확산직경과 유사한 경향으로 투여용량에 비례하여 감소하였다. 그러나 600 mg/kg의 경우에는 대조군에 비하여 평균값의 감소경향에도 불구하고 통계학적 유의성은 달성되지 아니하였다(Fig. 2).

2. Wistar rat 천식model에 미치는 영향

OVA로 능동적으로 감작시킨 Wistar rat에 시험약물을 1800 mg/kg의 용량으로 1일 1회 1주일간 연속투여한 후 OVA에 의해 천식을 유발하였을 때 대조군의 동물에서는 초기의 급격한 기관지 수축에는 뚜렷한 영향을 미치지 못하였으나 후기에 나타나는 지연형 기관지 수축반응이 유의성 있게 저해되는 현상을 보여주었다(Fig. 3).

3. Guinea pig 적출기관지에 미치는 영향

천식model에서 桂薑棗草黃辛附湯은 천식유발 반응에서 수반되는 기관지의 수축반응 중 지연형수축반응을 억제하였기 때문에 *in vitro*에서의 기관지 수축물질에 대한 직접적 이완효과를 검토하였다. 기관지수축 유도물질로는 전형적인 천식관련물질인 histamine과 leukotriene D₄(LTD₄)를 사용하였다. Histamine에 의해 유발된 수축반응에 대한 시험물질의 효과를 측정할 결과 histamine에 대해서는 시험약제 1000 μg/ml의 농도까지 이완작용이 뚜렷하지 못하였으며 고농도인 10 mg/ml에서는 유의성 있는 이완작용이 나타났다(Fig. 4). 한편 LTD₄에 의해 유발된 수축에 대해서는 1000 μg/ml에서 45% 정도의 이완현상을 발휘하였다(Fig 5).

4. 피부 혈관투과성 증진 유발물질의 효과에 미치는 영향

Rat에서 수행한 PCA 시험의 결과 桂薑棗草黃辛附湯이 항원투여시에 나타나는 Evans blue의 삼출을 억제하는 효과가 관찰되었기 때문에 이 시험에서는 anaphylaxis반응시 혈관투과성을 증가시키는 것으로 알려진 물질중 histamine, LTD₄ 및 5-hydroxytryptamine (serotonin)의 3종 물질을 직접적으로 rat의 피내로 투여하여 Evans blue의 확산직경 및 조직내 잔류량을 측정함으로써 PCA반응을 억제하는 기전을 연구하고자 하였다. 그 결과 시험물질인 桂薑棗草黃

辛附湯은 histamine이나 serotonin에 의해 유발된 색소의 삼출반응에 아무런 영향을 미치지 아니하였다(Fig. 6,7). 그러나 LTD₄에 의해 유발된 반응에는 1800 mg/kg에 의해 색소직경 및 색소량, 600 mg/kg에 의해서는 색소량에 유의성 있는 감소효과를 발휘하였다(Fig. 8).

5. Rat 알레르기성 비염 model에 미치는 영향

알레르기성 비염은 Type I 알레르기에 속하는 질환이며 시험약물이 천식을 포함한 선택적인 알레르기 차단작용이 있는 것이 확인되었기 때문에 또 다른 종류의 질환에 대한 약효를 규명하는 차원에서 본 연구를 수행하였다. OVA를 사용하여 능동적으로 감작시킨 rat에 Evans blue와 항원OVA를 정맥내로 투여하고 비강내로 유출되어 나오는 Evans blue색소량을 측정하였다. 이 실험 model에서 桂薑棗草黃辛附湯의 1주간 투여에 의해서 평균값이 다소 감소되는 경향은 관찰되었지만 통계적으로 유의할만한 차이가 관찰되지 아니하였다(Fig. 9).

6. 복강 비만세포에서의 histamine유리에 미치는 영향

약물이 항알레르기 효과를 발휘하는 방법으로서 중요한 하나의 기전은 mast cell로부터 탈과립시 유출되는 알레르기매개물질인 histamine, leukotriene, serotonin 등의 유리를 억제하는 것이다. 본 연구에서는 桂薑棗草黃辛附湯의 rat의 복강 mast cell에서 탈과립유발물질에 의해 유도된 histamine의 유리억제에 대한 시험을 수행한 결과 시험물질은 1000 μg/ml의 농도까지는 mast cell로부터의 histamine유리에 아무런 영향을 미치지 못하였으며 고농도인 10 mg/ml에서만 compound 48/80에 의해 유발된 유리작용을 유의성 있게 저해하였다(Table 1).

Table 1. Effect of GJHT on compound 48/80- and A-23187-induced histamine release in rat peritoneal mast cells (N=8)

GJHB concentration ($\mu\text{g/ml}$)	% of control	
	Compound 48/80-induced release	A-23187-induced release
1	124.2 \pm 10.3	94.5 \pm 8.2
10	115.7 \pm 6.7	83.6 \pm 18.2
100	94.0 \pm 8.7	119.8 \pm 4.3
1,000	102.4 \pm 4.0	123.0 \pm 11.6
10,000	87.8 \pm 5.4*	92.4 \pm 7.7

* Significantly different from control(100%) at $p < 0.05$

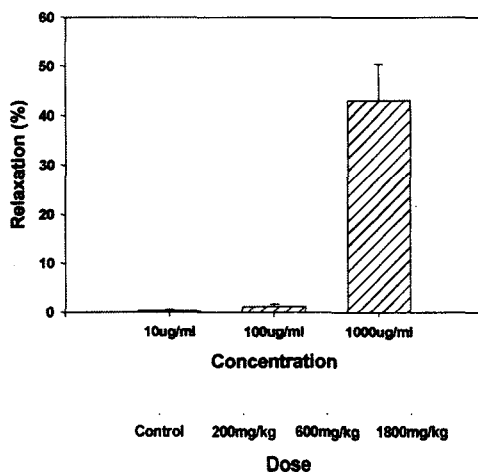


Figure 2. Effect of GJHB on homologous passive cutaneous anaphylaxis in rats: effect on Evans blue content. The test material was administered for one week once a day before the challenge. N=5 per each group.

* Significantly different from control at $p < 0.05$

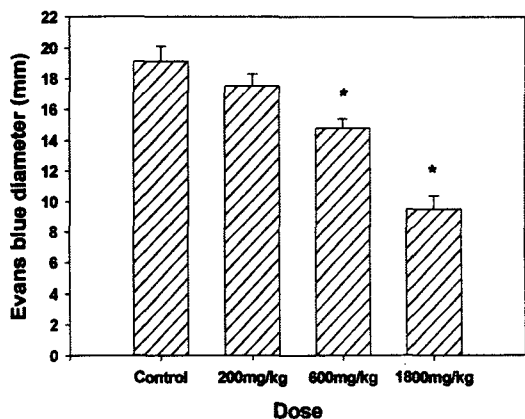


Figure 1. Effect of GJHB on homologous passive cutaneous anaphylaxis in rats: effect on Evans blue diameter. The test material was administered for one week once a day before the challenge. N=5 per each group.

* Significantly different from control at $p < 0.05$

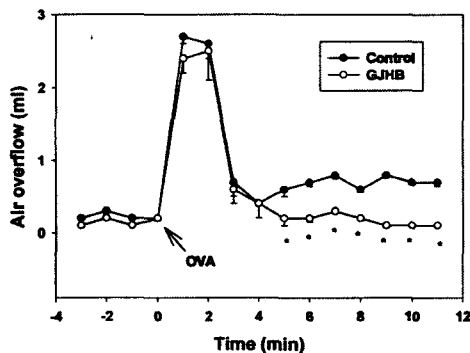


Figure 3. Effect of GJHB on airway resistance in rat asthma model. In A, representative tracings from

control and GJHB- treated rats are shown. In B, collective data from these two groups are illustrated. The test material was administered at 1,800mg/kg for one week once a day before the challenge. N=6 per each group.

* Significantly different from control at $p < 0.05$

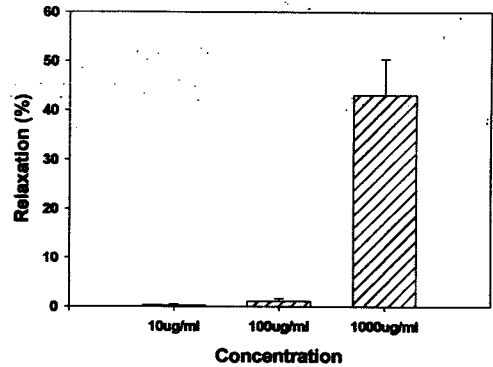


Figure 5. Effect of GJHB on leukotriene D_4 -induced contraction in isolated guinea pig tracheal strip. Test material was directly added to the organ bath when the leukotriene D_4 -induced contraction was stabilized. N=3 per each group.

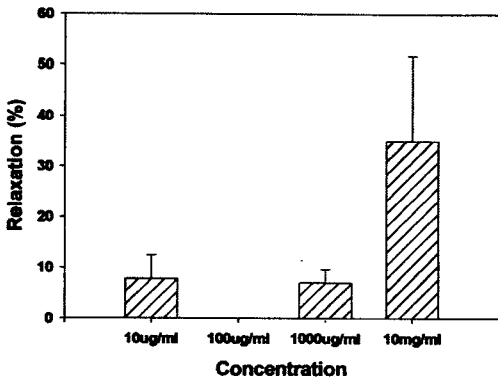


Figure 4. Effect of GJHB on histamine-induced contraction in isolated guinea pig tracheal strip. Test material was directly added to the organ bath when the histamine-induced contraction was stabilized. N=3 per each group. At 100 μ g/ml, the response was $0 \pm 0\%$.

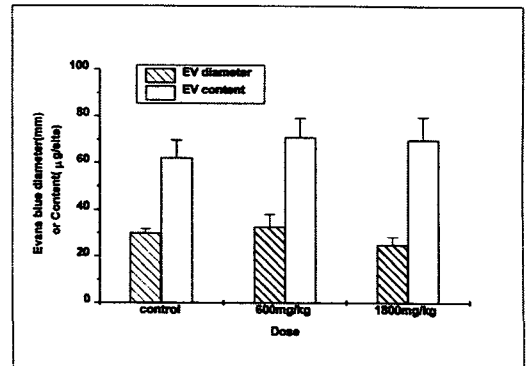


Figure 6. Effect of GJHB on histamine-induced extravasation of Evans blue in rats. Histamine was intradermally administered on the back of clipped rats just before the intravenous injection of Evans blue. The test material was administered for one week once a day before the challenge. N=5 in each group.

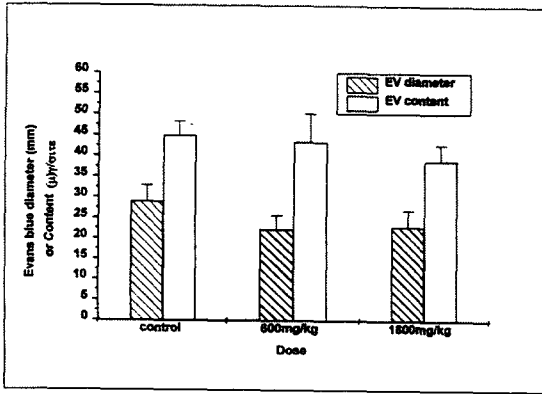


Figure 7. Effect of GJHB on serotonin-induced extravasation of Evans blue in rats. Serotonin was intradermally administered on the back of clipped rats just before the intravenous injection of Evans blue. The test material was orally administered for one week once a day before the challenge. N=5 in each group.

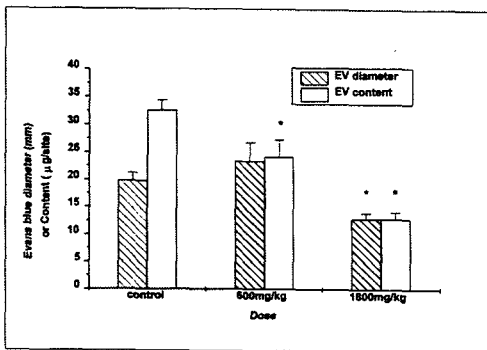


Figure 8. Effect of GJHB on leukotriene D₄-induced extravasation of Evans

blue in rats. Leukotriene D₄ was intradermally administered on the back of clipped rats just before the intravenous injection of Evans blue. The test material was orally administered for one week once a day before the challenge. N=5 in each group.

* Significantly different from control at $p < 0.05$

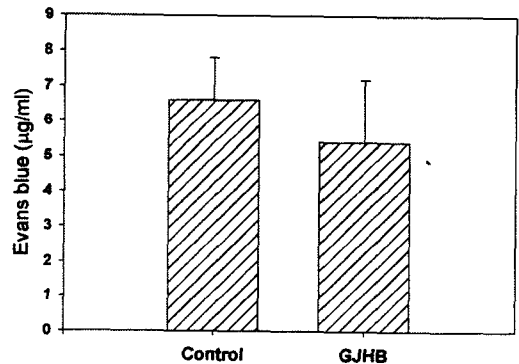


Figure 9. Effect of GJHB on the increase in Evans blue exudation to the nasal cavities induced by ovalbumin challenge in sensitized rats. The test material was administered at 1,800mg/kg for one week once a day before the challenge. N=7 in each group.

IV. 考 察

알레르기란 外部에서 侵入하는 異物質이나 혹은 同種의 組織, 體内の 불필요한 產物등과 특이하게 반응하여 抗體를 生成하고 이를 排除하여 그 個體의 恒常성을 유지하려는 현상으로, 免疫처럼 宿主에게 유익하게 작용하는 경우와 달리 抗原-抗體 반응으로 生體에 나타나는 異常反應이 非正常的으로 증가되어 生體에 有害한 작용을 끼치는 것을 말한다²¹⁻²³⁾.

한의학에서는 알레르기질환에 대해 哮喘, 鼻淵, 噴涕, 蕁麻疹, 紫斑症, 水腫 등의 한방증상과 연관하여 그 원인과 증상, 체질에 따라 치료하는데 한방약물치료는 개인의 체질적 특성이 고려되고 부작용이 적으며 여러 약물의 복합치료가 용이하고 원인치료와 체질개선을 통해 재발을 방지하는 장점을 지닌다^{27,28)}.

桂薑棗草黃辛附湯은 張의 金匱要略¹²⁾에 記載된 處方으로 桂枝去芍藥加麻黃附子細辛湯으로도 불리우며 傷寒論의 桂枝去芍藥湯과 麻黃附子細辛湯의 合方으로 구성되어 있다²⁹⁾.

桂薑棗草黃辛附湯은 桂枝, 生薑, 大棗, 甘草, 麻黃, 附子, 細辛으로 구성되어 있는데 이상의 약물들은 모두 榮衛를 조화시키고 溫經시키며 風寒邪를 發散시켜 止咳, 通經止痛시키는 효능을 지니고 있다³⁰⁻³⁴⁾. 이들중 桂枝는 抗histamine 작용, III형 알레르기반응에 속하는 arthus반응 억제작용, 馬杉腎炎의 요단백 감소 작용이 있으며, 甘草는 抗炎작용과 함께 I형에서 IV형에 이르는 알레르기반응에 작용하고 감작반응 및 arthus반응의 억제, IgE 항체 생산억제, 항탈과립작용, 腎炎發症의 예방 및 치료 작용을 지닌다. 麻黃과 細辛은 抗histamine 작용과 기관지 평활근 이완작용이 있어서 알레르기성 비염, 기관지 천식에 응용된다. 大棗는 I형 알레르기반응을 억제하는 작용이 있고 알레르기성 紫斑症에 응용되며 附子は 흥분, 강심, 진통, 이뇨시키는 작용이 있고 오한, 동통, 류머티즘과 水腫으

로 인한 喘證에도 응용된다^{28,35)}.

本 處方은 頭痛, 發熱, 惡風, 胸滿 등을 主證으로 하는 桂枝去芍藥湯과 脈沈, 反發熱, 惡寒 등을 主證으로 하는 麻黃附子細辛湯의 合方으로 구성되어 있으므로 二方의 證이 相合한 證 즉, 脈遲濇, 身冷, 手足逆冷, 骨痛, 痲痺, 不仁, 腹滿脇鳴 등을 治療目標로 삼고³⁶⁻³⁹⁾, 上衝, 頭痛, 發熱, 喘咳, 身體疼痛하고 惡寒이 甚한 者와 老衰한 사람이 秋冬의 환절기에 痰飲, 咳嗽, 胸背脇腹이 攣痛하면서 惡寒한 者를 治한다고 하였다^{13,29)}.

따라서 근래에는 류머티즘, 浮腫, 感冒, 老人의 寒冷時 咯痰症狀, 皮膚病, 肺結核의 末期症狀, 慢性上顎洞化膿症 등 일반적인 방법으로는 치료가 불가능한 疾患에 활용되고 있으며¹⁵⁾ 구성 약물들의 항알레르기 작용을 고려할 때 각종 免疫 疾患 및 알레르기 疾患 등에도 應用될 수 있을 것으로 思料된다.

數種의 韓藥을 대상으로 수행한 豫備試驗結果 桂薑棗草黃辛附湯의 PCA에 대한 저해작용이 확인되었기 본 시험에서는 PCA반응, 천식동물 model, 적출기관지 등을 이용하여 桂薑棗草黃辛附湯의 항알레르기작용을 확인하고 그 작용의 기전을 규명하려고 시도하였다.

桂薑棗草黃辛附湯은 실험적 천식반응의 초기에 나타나는 급격한 기도저항증가를 차단하지 못하였으나 그 후에 서서히 나타나는 기관지 수축반응은 유의성 있게 차단하는 것을 확인하였다. 이는 즉각적인 반응과 지연형의 기도 반응은 서로 다른 매개물질에 의해 유발되기 때문으로 추정된다. 즉 초기 반응이 histamine과 같은 매개인자에 의해 발생하며 후기반응은 주로 LTD₄와 같이 생리작용의 발현이 느린 매개물에 의해 유발되기 때문이 아닌가 한다. 현재의 시험약제는 histamine에 대해서 직접적인 길항작용이 없는 것에 반해 LTD₄에 대해서는 선택적인 길항작용을 가지고 있기 때문에 이런 결과가 얻어졌을 가능성을 시사한다⁴⁰⁻⁴²⁾

桂薑棗草黃辛附湯은 mast cell에서 histamine의 유리기전에는 별 영향을 미치지 못하는 것으로 나타났고, 서로 상이한 기전을 가진 histamine유리 방법에 의한 연구에서는 높은 농도에서 Compound 48/80에 의한 유리반응을 약하게 저해하였으며 A23187에 의한 유리에는 동일한 농도에서 무효하였다. 특히 Compound 48/80의 시험에서 유효한 시험물질의 농도가 매우 높았기 때문에 mast cell에서의 알레르기매개물질 유리작용이 다른 시험에서 발견된 항알레르기작용의 중요한 기전이라고 보기는 어렵다(43-47).

桂薑棗草黃辛附湯은 PCA 반응과 LTD₄에 의해 유발된 반응을 모두 저해하였으나 histamine과 serotonin에 의해 유발된 반응저해능은 없는 것으로 미루어 이 약제는 mast cell로부터의 알레르기매개물질 유리작용에 대한 억제기능은 없는 것으로 추정할 수 있다. 적출 guinea pig의 trachea를 이용한 *in vitro* 시험에서도 시험약제는 LTD₄에 의해 유발된 수축작용을 길항하는 능력이 histamine에 의해 유발된 경우보다 훨씬 강하였기 때문에 LTD₄ 길항작용이 항알레르기 작용에 중요한 기전임이 확인되었다.

桂薑棗草黃辛附湯은 본 연구의 결과 LTD₄의 기능 억제가 작용기전의 중요한 부분임이 규명되었기 때문에 leukotriene류의 물질이 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 結膜炎과 같은 질환⁴⁸⁾에의 유효성에 대해서도 검토할 필요가 있을 것이다.

현재의 연구결과만으로 桂薑棗草黃辛附湯이 단지 LTD₄의 반응만을 차단하는지 또 다른 추가적인 기전으로 알레르기반응을 차단하는지를 규명하기 위해서는 더많은 연구가 필요하지만 한약제가 함유한 복잡한 화학적 조성의 특성상 아직 발견하지 못한 새로운 기전이 존재할 가능성은 얼마든지 있다고 여겨진다.

또한 본 처방의 구성약물들이 지니고 있는 개별적 약리작용이 시험약물의 효과로 나타나지 않은 점, 예컨대 계지, 마황, 세신이 抗 histamine

작용이 있음에도 불구하고 일부 실험에서 histamine 유리기전에 영향을 미치지 못한 점 등으로 미루어 향후 한약제재의 복합작용에 관한 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 結 論

桂薑棗草黃辛附湯의 실험동물에서의 항알레르기효과 및 면역기능에 미치는 영향을 검토한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 桂薑棗草黃辛附湯을 600-1800 mg/kg/day의 용량으로 1주일간 경구투여하여 wistar rat의 passive cutaneous anaphylaxis반응이 용량의존성으로 유의성 있게 감소하였다.
2. Wistar rat의 피내에 투여한 LTD₄에 의해 증가된 모세혈관의 투과성이 600-1800 mg/kg/day의 용량으로 1주간 경구투여에 의해 유의성 있게 저해되지만 histamine이나 serotonin에 의해 유발된 투과성 증가는 영향을 받지 않았다.
3. 1800 mg/kg으로 1주간 경구투여하면 Wistar rat에서 ovalbumin에 의해 유발된 천식반응 중 지연형 기도저항 증가반응을 유의성 있게 저해하였다.
4. Guinea pig 적출기관지에서 1 mg/ml의 농도에서 LTD₄에 의해 유발된 수축반응을 유의성 있게 억제하였으나 동일농도에서 histamine에 의한 반응에는 작용이 거의 없었다.
5. Wistar rat 복강 mast cell로부터의 compound 48/80에 의해 유발된 histamine유리현상이 10 mg/kg의 농도에 의해 미약하게 저해되었으나 A23187에 의해 유발된 유리현상에는 아무런 영향을 미치지 못하였다.

6. Wistar rat을 이용한 알레르기성 비염 model에서 1800 mg/kg로 1주간 경구투여에 의해 색소의 삼출반응에 아무런 영향을 미치지 아니하였다.

이상의 결과는 桂薑棗草黃辛附湯이 천식과 같은 Type I 알레르기반응을 완화시키는 작용이 있음을 시사한다. 이 작용이 직접적으로 LTD₄의 작용저해와 관련이 있으나 mast cell에서의 알레르기매개물질의 유리에는 영향을 없는 것 같다.

參考文獻

1. 新太陽社 編輯局 百科事典部 : 原色最新醫療 大百科事典, 서울, 新太陽社, vol. 2 p.165, vol. 12 p.63, pp.137-143, 1994.
2. 全國韓醫科大學肝系內科學教授 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫學研究所, p.212, 360, 428, 1989.
3. 李淵台 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, p.33, 1985.
4. 微生物學分科會 : 綜合微生物學, 서울, 學窓社, p.225, pp.235-248, 1988.
5. Crawford L.V. and Cohen R. Therapy for allergic rhinitis. *Comp. Ther* 11: 60-69, 1985
6. Coombs RRA and Gell PGH: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. *In Clinical aspect of immunology*, p.575, Gell PGH and Coombs RRA, eds., Blackwell Scientific Publication, Oxford, UK, 1968
7. Wasserman SI. Anaphylaxis. *In: Middleton E, Jr, Reed CE, Ellis EF, eds. Allergy: Principles and practice. St. Louis, CV Mosby, p.689, 1983*
8. 鞠泓一 : 月刊臨床藥學, 월간 임상약학사, 7(1): 10, 37, 47, 1990.
9. 李文鎬 外 : 內科學, 서울, 學林社, p.2043, 1986.
10. Kurt.J. Isselbacher : HARRISON'S 내과학, 서울, 정담출판사, pp1262-1264, 1997
11. Cole P., Haight J.S.J., Cooper P.W. and Kassel E.E. A computer tomographic study of nasal mucosa: effects of vasoactive substances. *J. Otolaryngol.* 12: 58-60, 1983
12. 中國中醫研究院: 正統金匱要略, 서울, 醫學研究社, pp307-308, 1987.
13. 蔡仁植 : 傷寒論譯註, 서울, 高文社, p.293, 305, 401, 1987.
14. 柳基遠 : 診療와 優秀處方, 서울, 成輔社, p.306, 1992.
15. 矢數道明 : 臨床應用 新韓方處方解說, 서울, (株)保健新報, p.40-45, 1985.
16. 金璟濬 外 : 桂枝湯 加味方의 알레르기 鼻炎에 對한 治驗報告, 大韓外官科學會誌, 10 (1): 332-382, 1997
17. 李文瑞 : 醫林, 서울, 圖書出版 鼎談, 27 (210): 89, 1992
18. 方晃秀 : 醫林, 서울, 圖書出版 鼎談, 19(63): 59, 1984
19. 徐文教 : 醫林, 서울, 圖書出版 鼎談, 20 (166): 6, 1985
20. Von Euler US. Relationship between histamine and the autonomous nervous system. pp. 318-333, *In: Rocha e Silva M, eds. Histamine and anti-histaminics. Berlin, Heidelberg, New York, Springer, pp. 318-333, 1966*
21. Bakathir HA, Gissler J and Hirschelmann R. Rat heart anaphylaxis: Influence of mediator antagonists. *Gen. Pharmacol.* 22: 673-675, 1991
22. Koda A, Miura T, Inagaki N, Sakamoto

- O, Arimura A, Nagai H and Mori H. A method for evaluating anti-allergy drugs by simultaneously induced passive cutaneous anaphylaxis and mediator reactions. *Int. Arch. Appl. Immunol.* 92: 209-216, 1990
23. 李尙仁 外 : 韓方治療製의 標準化 規格 統一 研究, 서울, 保健社會部, 1981.
24. Katayama S, Shionoya H and Ohlke 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. *Microbiol. Immunol.* 22: 89-101, 1978
25. Shore PA, Burkhalter A and Cohen VH, Jr. : A method for the fluorometric assay of histamin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127: 182-186, 1959
26. Konzett H. and Rössler R. Versuchsanordnung zu Untersuchungen an der Bronchialmuskulatur. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 195: 71-74, 1940
27. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方概念과 治療에 關한 文獻의 考察, 大韓韓醫學會誌, 11(2): 54-91, 1991.
28. 康秉秀 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 成輔社, pp.22-23, 64-68, 70-73, 369-374, p.380, 1988.
29. 吳謙 外 : 醫宗金鑑, 上冊, 北京, 人民衛生出版社, pp.590-593, 1982.
30. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 南山堂, p.174, 175, 254, 260, 263, 512, 516, 518, 1986.
31. 江克明, 包明蕙 : 校正方劑大辭典, 서울, 醫聖堂, p.866, 1991.
32. 黃宮 : 本草求真, 台北, 宏業書局 p.9, 15, 24, 71, 72, 75, 79, 1970.
33. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館, p.25, 27, 36, 42, 292, 529, 524, 1983.
34. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典, 台北, 新文豐出版公司, p.196, 1058, 1073, 2828, 3454, 3744, 4037, 1971.
35. 科學百科辭典出版社 : 실용동의약학, 서울, 일월서각, p.77, 83, 223, 228, 230, 358, 415, 1990.
36. 杜雨茂 : 傷寒論辨證表解, 西安, 陝西科學技術出版社, p.22, 301, 1984.
37. 郭子光 外 : 傷寒論湯證新編, 上海, 科學技術出版社, pp.24-26, 84-87, 1983.
38. 朴憲在 : 傷寒論概論, 서울, 藥業新聞社, p.35, 89, 192, 1988.
39. 楊宏仁 : 傷寒論重編, 台南, 世一書局, p.30, pp.263-264, 1970.
40. Gomes JC, Di Stasi LC, Saarbosa F, Barata LES: Pharmacological evaluation of the inhibitory effect of extracts from *Anchietia salutaris* on the histamine release induced in the rat the guinea pig. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* 103: 188-193, 1994
41. Misawa M, Takenuchi K and Abiru T: Strain difference in an allergic asthma model in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 45: 63-68, 1987
42. Suschitzki JL: Antiasthmatic agents: the discovery of intel. *Chem. Br.* 21: 554-555, 1985
43. Aridor M, Traub LM and Sagi-Eisenberg R: Exocytosis in mast cells by 2 basic secretagogues: evidence for direct activation of GTP-binding proteins. *J. Cell. Biol.* 121: 909-917, 1990
44. Barnes PJ, Chung KF and Page CP: Inflammatory mediators and asthma. *Pharmacol. Rev.* 40: 49-83, 1988

45. Holgate ST, Djukanovic R, Wilson J, Roche W, Britten K and Howarth PH: Allergic onflammation and its pharmacological modulation in asthma. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 94: 210-217, 1991
46. Lagunoff D, Martin TW and Read G: Agents that release histamine from mast cells. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23: 331-351, 1983
47. Lo TN, Saul W and Beaven MA: The action of Ca^{++} ionophores on rat basophilic (2H3) cells are dependent on cellular ATP and hydrolysis of inositol phospholipids: a comparison with antigen stimulation. *J. Biol. Chem.* 262: 4141-4145, 1987
48. Garceau D, Ford-Hutchisno AW and Charleson S: *Eur. J. Pharmacol.* 143: 1, 1987