

苦蔘 Ethyl Acetate 小分割이 적출 심장에 미치는 영향

권강범 · 박관하¹ · 김우경 · 김은경 · 김구환 · 고광학 · 최연성 · 장근국 · 노성일² · 한동원² · 차 숙³ · 박대영³ · 류도곤*

원광대학교 한의과대학 생리학교실, 1: 군산대학교 해양과학대학 해양생명의학과, 2: 원광대학교 한의과대학 재활의학교실, 3: 원광대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of the Ethyl Acetate Soluble Fractions of *Sophorae Radix* in Langendorff Hearts

Kang Beom Kwon, Gwan Ha Park¹, Woo Kyung Kim, Eun Kyung Kim, Goo Hwan Kim, Kwang Hak Ko, Yeon Seong Choi, Geun Gook Zhang, Seong Il Rho², Dong Won Han², Suk Cha³, Dae Young Park³, Do Gon Ryu*

Department of Physiology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

1: Department of Marine Biomedical Science, College of Ocean Science of Technology, Kunsan National University,

2: Department of Oriental Rehabilitation Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

3: Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

We previously reported that the ethyl acetate(EA) soluble fraction of *Sophorae Radix*(SR) water extract had the preventive effects against cardiovascular anaphylaxis elicited in experimental animals. In this study, we tested the anti-anaphylactic effects of the nine kinds of EA soluble subfractions in animal models such as Langendorff heart and anesthetized rats. These results were obtained as followed ; Among nine kinds of SR EA soluble subfractions, N10-16-2 and N10-16-9 fractions have an effects improving cardiovascular anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts. In passively anesthetized rats, N10-16-2 and N10-16-9 fractions of SR EA soluble subfractions have an effects improving cardiovascular anaphylaxis. N10-16-2 and N10-16-9 fractions of SR EA soluble subfractions inhibited the decrease of histamine release induced by compound 48/80 and A-23187 in rat peritoneal mast cells. These results suggest that N10-16-2 and N10-16-9 fractions of SR EA soluble subfractions involve anti-anaphylactic molecules in cardiovascular system.

Key words : *Sophorae Radix*, ethyl acetate soluble fraction, cardiovascular anaphylaxis, anti-anaphylactic effect, mast cell, Langendorff heart, anesthetized rats

서 론

苦蔘(*Sophorae Radix*)은 豆科에 속한 도둑놈의 지팡이(*Sophora flavescens* Ait.)의 根으로서 최초로 《神農本草經》¹⁾에 “主心腹結氣, 癥瘕, 積聚...”라고 기재되어있으며, 味苦, 性寒하고 歸經은 心, 肝, 胃, 大腸, 膀胱 등이라고 하였다²⁻²⁴⁾. 효능은 淸熱燥濕, 利尿, 健腸胃, 祛風殺蟲 등이며, 濕熱下利, 黃疸, 赤白帶下, 陰部瘙癢, 疥瘡頑癬 等に 사용한다²⁻²⁴⁾.

알레르기란 생체가 동일한 항원에 반복 접촉됨으로써 그 항

원에 대해 최초에는 나타나지 않았던 이상반응을 일으키는 상태로 항원-항체반응의 결과 야기되는 전신적, 국소적 조직상해 반응을 말한다²⁴⁻²⁷⁾. 많은 종류의 항원들이 인간에서 급격하고 전신적인 allergy반응(Type I 반응)을 유발할 수 있으며 이 반응을 anaphylaxis 반응이라 한다. 순환기 anaphylaxis 반응은 호흡기의 anaphylaxis 반응과는 달리 그 기전 (매개)인자가 명확히 규명되어 있지 않다. 순환기 anaphylaxis 반응은 혈관의 현저한 이완작용 (저혈압)과 cardiac failure (부정맥, 심근수축력 저하) 등이 특징적인 반응이다. 다양한 종류의 항 알레르기 약제가 알레르기반응에 대하여 효과가 있다고 보고되고 있으나²⁸⁻³²⁾ 순환기 anaphylaxis에 대한 효과적인 약제는 거의 개발되지 않고 있는 실정이다³³⁾. 한의학에서는 알레르기질환에 대해 哮喘, 鼻淵, 噴涕, 蕁麻疹, 紫斑症, 水腫 등

* 교신저자 : 류도곤, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학

· E-mail : tkryu@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6846

· 접수 : 2004/07/29 · 수정 : 2004/08/26 · 채택 : 2004/10/02

의 한방증상과 관련하여 그 원인과 증상, 체질에 따라 치료하는데 한방약물치료는 개인의 체질적 특성이 고려되고 부작용이 적으며 여러 약물의 복합치료가 용이하고 원인치료와 체질개선을 통해 재발을 방지하는 장점을 지닌다³⁴⁾. 최근 쑥쑥에 대한 실험연구로는 실험적으로 유발된 부정맥에 대하여 감심, 항부정맥작용이 있다고 보고하였고^{4,6,35-37)}, 또한 권 등³⁸⁾은 쑥쑥 전탕액 분획물의 순환기 anaphylaxis 억제효과를 보고하였으며, 김 등³⁹⁾은 쑥쑥 유기용매 분획층 중 ethyl acetate 층이 실험적으로 유발된 병태모델에서 알레르기 억제 효과가 있다고 보고하였다.

이에 저자는 쑥쑥 전탕액을 한 등의 방법⁴⁰⁾을 이용하여 ethyl acetate 분획층에서 silica gel column을 이용하여 9종류의 소분획층(subfraction)을 얻은 후 실험적으로 유발된 순환기 anaphylaxis에 대한 억제효과를 조사하였으며 또한 macrophage에서 mast cell를 분리하여 histamine 분비에 대한 방어효과를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

Sparague-Dawley rat, Guinea pig는 Specific-Pathogen Free(SPF)의 상태로 대한실험동물에서 구입하여 사육하면서 사용하였다. 모든 동물은 21±2℃의 온도와, 55±5%의 습도로 1일 12시간 조명조건에서 사육하였다. 사료(제일제당) 및 물(수도수)은 충분히 공급하였다.

2. 쑥쑥 소분획층의 제조

쑥쑥 200g에 3차 증류수 1.8 l를 각각 환저플라스크에 넣고 냉각기를 부착하여 2시간동안 전열기로 전탕한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리하고 진공 농축기로 감압농축한 후 동결건조기에서 24시간 동결건조하여 57.0g의 분말 시료를 얻었다. 위의 과정을 2회 반복하여 모은 쑥쑥 전탕액 100g을 한 등의 방법⁴⁰⁾에 따라 계통분획을 하였다. 계통분획 방법은 위에서 얻은 물 가용부 100g을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol 및 H₂O 가용부로 분획하여 각각 0.12g, 2.32g, 10.04g, 15.4g 및 50.8g을 얻었다. 이 중 ethyl acetate 분획물을 silica gel로 코팅한 후 증발시켜 silica gel로 충전한 column에서 flash chromatography 방법을 이용하여, ethyl acetate와 n-hexane을 점차 올리면서 9 종류의 소분획층을 얻었다.(Fig. 1)

3. Guinea Pig의 Langendorff heart에서의 약효시험

Guinea pig를 시험 24시간전 PCA titer 1000배의 guinea pig anti-OVA serum을 1 ml/animal의 양으로 전지정맥내로 투여하여 수동적으로 감각하였다. In vitro에서 anaphylaxis에 의해 유발된 심근손상 보호효과의 검색을 위해 Hartley guinea pig를 가벼운 ether마취하에서 경동맥을 절단하여 치사하고 심장을 적출하였다. Aortic root에 cannula를 삽입하고 Langendorff apparatus에 현수하고 관류액으로 관류를 개시하였다. 관류액은 cannula로부터 60 cm H₂O로 유지하며 심장의 apex에는

nylon 근을 연결하여 isometric transducer로 심장의 수축력변화를 측정하였다. 관류액은 Krebs-Henseleit액(118 mM NaCl; 4.7 mM KCl; 2.5 mM CaCl₂; 1.6 mM MgSO₄; 24.9 mM NaHCO₃; 1.2 mM KH₂PO₄; 11.0 mM glucose, pH 7.4)으로 95% O₂/5% CO₂로 포화시켜서 37℃로 유지하였다. 적출심장은 20분정도 안정화시켜서 ovalbumin을 2 mg/heart으로 투여하여 anaphylaxis 반응을 유도하였으며 시험 약물은 관류액과 일정한 농도로 혼합하여 시험하되, control시험군에서는 약물의 추가없이 수행하였다. 심근조직의 상해정도를 측정하기 위해 anaphylaxis유발 5분간 및 유발 15분 후 5분간의 관류액을 모아서 lactate dehydrogenase (LDH) 및 creatine kinase(CK)의 측정에 사용하였다. 이들 효소의 측정은 효소측정용 diagnostic kit(Sigma)를 사용하였다. Edema index(부종지수)는 실험 후 wet heart weight와 dry weight를 비교하여 측정하였다.

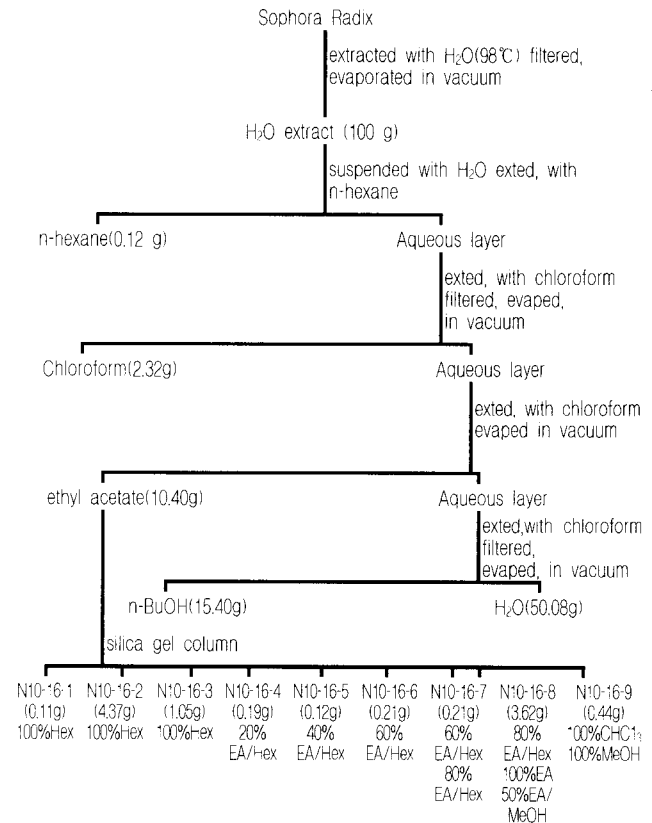


Fig. 1. Preparation of *Sophorae Radix* fractions

4. 마취 Guinea pig에서의 약효 시험

웅성 guinea pig에 anti-OVA 혈청을 1ml의 용량으로 복강주사하여 48시간 감각시킨 후에 시험에 사용하였다. 동물을 30 mg/kg의 pentobarbital로 마취하고(i.p.) 우측의 common carotid artery와 좌측의 jugular vein에 catheter를 장착하였다. 좌 정맥내의 common carotid artery와 jugular vein에 catheter를 삽입한 후 physiography를 사용하여 혈압 및 맥박의 반응을 기록하였다. 쑥쑥 소분획층과 시험물질들은 정맥내로 anaphylaxis야기 5분전에 투여하였다.

5. Mast cell의 분리 및 histamine유리에 대한 시험

Wistar rat(200-250g)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) 30ml를 복강내로 투여하고 2분간 마사지 하였다. 복강액을 취해 가제로 거르고 150 x g로 4분간 실온에서 원심분리하였다. 세포액을 heparin이 없는 Tyrode용액으로 2번 씻어서 세포를 부유시켰다. 0.5ml (세포수 5.4 x 10⁴ cell/ml 정도)씩 나누어서 37 ℃로 가온하여 10분간 안정화 시켜서 histamine releaser인 Compound 48/80 및 A23187을 각각 0.5μg/ml와 0.1 μM의 농도로 넣고 10분간 incubation 하였다. Histamine유리반응은 시험관을 얼음으로 냉각하여 중단하고 150 x g(4 ℃)에서 5분간 원심분리하여 supernant와 pellet을 분리하였다. Pellet에 1.5ml의 Tyrode용액을 넣고 perchloric acid를 0.4 N이 되도록 넣었다. Histamine은 유기층-수층의 추출을 통해 추출하고 0.005% o-phthaldehyde 0.6ml를 가해 교반하고 빙수에서 40분간 방치하면서 반응을 진행하였다. 0.125 M의 인산액 1ml를 가해 반응을 정지한 후 실온에서 20분간 방치하였다. 반응생성물의 농도는 야기과장 360 nm, 측정과장 450 nm에서의 형광강도를 측정하였다. 표준액은 0, 0.003, 0.01, 0.03, 0.1, 0.3 및 1μg/ml를 사용하여 동일한 방법으로 반응하였다. 유리량은 약물을 가하지 않고 실험한 tube에서의 반응을 100%로 하고 상대적인 저해정도를 계산하였다.

6. 통계처리

모든 실험결과는 mean±SEM으로 나타났다. 대조군과 실험군과의 유의성 검사는 student t-test를 이용하였으며 p값이 0.05 이하인 것만 유의한 것으로 하였다.

실험성적

1. Langendorff heart에 미치는 苦蔘 Ethyl acetate 소분획층(N10-16-1~9)의 효과

Langendorff heart에서 antigen challenge에 의해 나타나는 반응은 급격한 contractile force의 증가(maximal contractile force)와 tachycardia가 나타난다. Contractile force는 시간이 지나면서 수축력의 감소(post-challenge contractile force)로 변하며 tachycardia는 arrhythmia로 변하게 된다. arrhythmia가 발생하는 시점에서 coronary flow의 감소도 나타나게 된다. 이때 시간이 지남에 따라 심근의 손상으로 인하여 edema의 발생, 또 생화학적으로 lactate dehydrogenase(LDH)과 creatine kinase의 유출 증가가 수반된다. 대조군에서 maximal contractile force는 155%로 증가하여 tachycardia가 나타났으며 시간이 지남에 따라 coronary flow는 40.8%로 감소하고 수축력 또한 49.6%로 감소하였다. arrhythmia 시간도 9.3분으로 나타나고 발생 시간도 63.1초로 나타났다. Creatine kinase는 22.2u/L로 누출되었다(Table 1). 이들 각각의 Parameter에 대하여 苦蔘의 ethyl acetate로부터 유래한 N10-16 series 9종의 시험물질이 미치는 영향을 측정하였다.

1) N10-16-1~3 소분획층의 효과

苦蔘 ethyl acetate(EA) 소분획층 중 N10-16-1 소분획층의 효

과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 creatine kinase(CK)가 18.7u/L의 농도로 누출되어 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(Table 1). N10-16-2 소분획층의 효과를 조사한 결과 maximal contractile force가 116.7%로 나타나 대조군 155.0%에 비하여 유의한 감소를 나타냈으며 coronary flow 또한 73.6%로 나타나 대조군 40.8%에 비하여 유의한 증가를 나타냈다. CK의 누출은 6.5u/L로 나타나 대조군 22.2u/L에 비하여 유의한 감소를 나타냈다(Table 1). N10-16-3 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았으며 시험 물질의 특성으로 인하여 3분 후 실험쥐의 심장 박동이 정지하였다(Table 1).

Table 1. Effect of N10-16-1~3 fractions on cardiac anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts

test substance	conc.	# of Exp.	Parameter	Values
saline (control)		11	Max. cont. force	155.0±1.1%
			Post-challenge cont. force	49.6±5.2%
			Post-challenge cor. flow	40.8±4.4%
			Arrhythmia dur.	9.3±2.3 min
			Arrhythmia onset	63.1±8.7 sec
			CK	22.2±4.2 u/L
N10-16-1	30μg/ml	5	Max. cont. force	170±13.2%
			Post-challenge cont. force	46.2±7.8%
			Post-challenge cor. flow	32.9±6.8
			Arrhythmia dur.	12.5±3.0 min
			Arrhythmia onset	82.1±20.1 sec
			CK	18.7±4.0 u/L
N10-16-2	30μg/ml	6	Max. cont. force	116.7±10.1*
			Post-challenge cont. force	57.2±13.6%
			Post-challenge cor. flow	73.6±9.2%*
			Arrhythmia dur.	5.1±2.1 min
			Arrhythmia onset	68.8±9.0 sec
			CK	6.5±2.2 u/L*
N10-16-3	30μg/ml	2	Max. cont. force	160%
			Post-challenge cont. force	21%
			Post-challenge cor. flow	8%, 15%
			Arrhythmia dur.	심장 박동 정지
			Arrhythmia onset	74 sec
			CK	no detection

Max. cont. force: maximal contractile force, Post-challenge cont. force: post challenge contractile force, Post-challenge cor. flow: post challenge coronary flow, Arrhythmia dur.: arrhythmia duration, CK: creatine kinase. Other details are represented in Material and Methods. * Significantly different from control at p<0.05.

2) N10-16-4~6 소분획층의 효과

苦蔘 ethyl acetate(EA) 소분획층 중 N10-16-4 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 maximal contractile force가 138.0%, 분비된 creatine kinase(CK)가 18.8u/L로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다(Table 2). N10-16-5 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다. 그러나 maximal contractile force가 141.0%로 나타나 대조군155.0%에 비하여 약간 감소하였다(Table 2). N10-16-6 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다(Table 2).

3) N10-16-7~9 소분획층의 효과

苦蔘 ethyl acetate(EA) 소분획층 중 N10-16-7 소분획층의 효

과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다(Table 3). N10-16-8 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타나지 않았다(Table 3). N10-16-9 소분획층의 효과를 조사한 결과 대조군에 비하여 유의한 변화가 나타났다. post-challenge contractile force가 77.0%, coronary flow가 74.3%로 나타나 대조군에 비하여 유의한 변화를 나타냈으며 Arrhythmia onset 시간도 102.5초로 대조군 63.1초에 비하여 2배정도 늦게 나타났으며 누출된 CK의 양도 11.8u/L로 대조군에 비하여 감소하였다(Table 3).

Table 2. Effect of N10-16-4~6 fractions on cardiac anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts

test substance	conc.	# of Exp.	Parameter	Values
N10-16-4	30µg/ml	4	Max. cont. force	138.0±22.2%
			Post-challenge cont. force	57.9±10.0%
			Post-challenge cor. flow	36.3±7.7%
			Arrhythmia dur.	11.2±1.4 min
			Arrhythmia onset	71.0±9.2 sec
			CK	18.8±4.3 u/L
N10-16-5	30µg/ml	5	Max. cont. force	141.6±22.2%
			Post-challenge cont. force	48.6±12.3%
			Post-challenge cor. flow	36.2±9.0%
			Arrhythmia dur.	10.0±2.3 min
			Arrhythmia onset	84.7±12.0 sec
			CK	26.9±5.1 u/L
N10-16-6	30µg/ml	5	Max. cont. force	159.2±23.7%
			Post-challenge cont. force	38.5±12.5%
			Post-challenge cor. flow	51.2±8.8%
			Arrhythmia dur.	8.7±3.0 min
			Arrhythmia onset	74.7±14.6 sec
			CK	31.5±10.2 u/L

Max. cont. force: maximal contractile force, Post-challenge cont. force: post challenge contractile force, Post-challenge cor. flow: post challenge coronary flow, Arrhythmia dur.: arrhythmia duration, CK: creatine kinase. Other details are represented in Material and Methods. * Significantly different from control at p<0.05.

Table 3. Effect of N10-16-7~9 fractions on cardiac anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts

test substance	conc.	# of Exp.	Parameter	Values
N10-16-7	30µg/ml	5	Max. cont. force	173.4±26.0%
			Post-challenge cont. force	53.2±9.1%
			Post-challenge cor. flow	44.5±9.0%
			Arrhythmia dur.	12.7±4.2 min
			Arrhythmia onset	54.3±6.5 sec
			CK	20.7±5.2 u/L
N10-16-8	30µg/ml	5	Max. cont. force	172.5±20.0%
			Post-challenge cont. force	33.5±5.7%
			Post-challenge cor. flow	38.4±7.9%
			Arrhythmia dur.	12.6±4.1 min
			Arrhythmia onset	82.0±11.2 sec
			CK	25.2±5.2 u/L
N10-16-9	30µg/ml	5	Max. cont. force	123.1±8.7%
			Post-challenge cont. force	77.0±10.4%*
			Post-challenge cor. flow	74.3±6.5%*
			Arrhythmia dur.	3.3±1.5 min
			Arrhythmia onset	102.5±11.1 sec*
			CK	11.8±2.0 u/L

Max. cont. force: maximal contractile force, Post-challenge cont. force: post challenge contractile force, Post-challenge cor. flow: post challenge coronary flow, Arrhythmia dur.: arrhythmia duration, CK: creatine kinase. Other details are represented in Material and Methods. * Significantly different from control at p<0.05.

2. Langendorff heart에 미치는 苦蓼 Ethyl acetate N10-16-2와 N10-16-9 소분획층의 농도 의존적 효과

Langendorff heart에 9종류의 苦蓼 ethyl acetate 소분획층의 효과를 조사한 결과 N10-16-2와 N10-16-9층에서 효과를 나타내 이들 두 소분획층의 농도 의존성을 조사하기 위하여 각각 10, 30, 100µg/ml의 농도로 투여하여 순환기 anaphylaxis 반응에 대한 방어효과를 조사하였다.

1) 苦蓼 Ethyl acetate N10-16-2의 효과

N10-16-2의 효과를 조사한 결과 순환기 anaphylaxis를 나타내는 지표인 maximal contractile force가 10, 30, 100µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 89.5%, 75.3%(p<0.05), 77.3%(p<0.05)로 나타나 통계적으로 유의한 감소를 나타냈다. Post-challenge contractile force의 경우 30µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 156.0%(p<0.05)로 나타나 유의하게 증가하였다. Coronary flow량은 10, 30, 100µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 168.4%(p<0.05), 180.4%(p<0.05), 182.4%(p<0.05)로 유의하게 증가하였다. 부종 지표(Edema index)는 30, 100µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 65.0%(p<0.05), 62.2%(p<0.05)로 유의하게 감소하였다. 또한 누출된 creatine kinase의 양은 30, 100µg/ml의 농도로 투여한 군에서 각각 6.5u/L, 8.1u/L로 나타나 대조군에 비하여 70.7% (p<0.05), 63.2%(p<0.05) 감소시키는 효과가 나타났다(Table 4).

Table 4. Dose-dependency of N10-16-2 on cardiac anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts

Parameters	Control	N10-16-2 (µg/ml)		
		10	30	100
# of experiment	11	5	6	5
Basal contractility (g)	4.6±0.8	4.4±0.4	4.8±0.3	4.2±0.5
Basal heart rate (bpm)	227±14	231±22	221±30	225±23
Basal coronary flow (ml/min)	6.8±0.4	6.6±1.1	6.9±2.2	6.4±1.2
Heart wet weight (g)	2.1±0.2	2.3±0.3	2.1±0.2	2.5±0.4
Maximal contractile force (% of pre-OVA)	155.0±11.1	138.7±19	116.7±10.1*	120±4.2*
Post-challenge contractile force (% of pre-OVA)	49.6±5.2	55.8±11.2	57.2±13.6	77.4±9.7*
Tachycardia (+ bpm)	65.5±8.3	68.4±11.0	54.5±16.8	60.0±11.0
Post-challenge coronary flow (% of pre-OVA)	40.8±4.4	68.7±6.9*	73.6±9.2*	74.4±8.0*
Arrhythmia duration (min)	9.3±2.3	6.4±3.7	5.1±2.1	2.0±2.5
Arrhythmia onset (sec)	63.1±8.7	57.2±12.0	68.8±9.0	71.3±12.0
Edema index (wet wt/dry wt)	3.7±0.4	3.1±0.7	2.4±0.3*	2.3±0.2*
Lactate dehydrogenase change (u/l)	15.3±3.0	10.2±2.0	8.4±2.1	8.2±1.0
Creatine kinase change (u/l)	22.2±4.2	24.4±3.7	6.5±2.2*	8.1±2.7*

*Different from control at p<0.05 by Student's t-test.

2) 苦蓼 Ethyl acetate N10-16-9의 효과

N10-16-9의 효과를 조사한 결과 basal coronary flow가 100 µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 141.2%(p<0.05)로 나타나 통계적으로 유의한 증가를 나타냈으며 Post-challenge contractile force의 경우 10, 30, 100µg/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 142.0%(p<0.05), 155.2%(p<0.05),

131.6%(p<0.05)로 나타나 유의하게 증가하였으며 처리한 농도에 의존성은 보이지 않았다. Coronary flow양은 30, 100 μ g/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 182.1%(p<0.05), 193.4%(p<0.05)로 유의하게 증가하였다.

Arrhythmia duration은 대조군에 비하여 72% 감소시키는 효과를 나타냈으며 부종 지표(Edema index)는 30, 100 μ g/ml의 농도로 투여한 군에서 대조군에 비하여 각각 51.4%(p<0.05), 56.8%(p<0.05)로 유의하게 감소하였다. 또한 누출된 creatine kinase의 양은 100 μ g/ml의 농도로 투여한 군에서 6.0u/L로 나타나 대조군에 비하여 73.0%(p<0.05) 감소시키는 효과가 나타났다(Table 5).

Table 5. Dose-dependency of N10-16-9 on cardiac anaphylaxis in guinea pig Langendorff hearts

Parameters	Control	N10-16-9 (μ g/ml)		
		10	30	100
# of experiment	11	4	5	5
Basal contractility (g)	4.6 \pm 0.8	5.0 \pm 2.1	4.5 \pm 2.0	4.4 \pm 1.2
Basal heart rate (bpm)	227 \pm 14	237 \pm 32	199 \pm 26	212 \pm 23
Basal coronary flow (ml/min)	6.8 \pm 0.4	7.2 \pm 2.6	8.0 \pm 0.7	9.6 \pm 1.1*
Heart wet weight (g)	2.1 \pm 0.2	2.3 \pm 0.3	2.4 \pm 0.1	2.5 \pm 0.2
Maximal contractile force (% of pre-OVA)	155.0 \pm 11.1	133.0 \pm 17	123.1 \pm 8.7	119 \pm 17
Post-challenge contractile force (% of pre-OVA)	49.6 \pm 5.2	70.4 \pm 7.8*	77.0 \pm 10.4*	65.3 \pm 3.7*
Tachycardia (+ bpm)	65.5 \pm 8.3	78.0 \pm 12.2	63.6 \pm 8.8	60.1 \pm 9.0
Post-challenge coronary flow (% of pre-OVA)	40.8 \pm 4.4	52.0 \pm 8.4	74.3 \pm 6.5*	78.9 \pm 9.4*
Arrhythmia duration (min)	9.3 \pm 2.3	5.5 \pm 2.3	3.3 \pm 1.5	2.6 \pm 0.9*
Arrhythmia onset (sec)	63.1 \pm 8.7	54.5 \pm 15.0	102.5 \pm 11.0*	94.3 \pm 8.0*
Edema index (wet wt/dry wt)	3.7 \pm 0.4	3.1 \pm 0.5	1.9 \pm 0.4*	2.1 \pm 0.4*
Lactate dehydrogenase change (u/L)	15.3 \pm 3.0	14.6 \pm 5.5	6.3 \pm 2.0	8.5 \pm 3.0
Creatine kinase change (u/L)	22.2 \pm 4.2	18.8 \pm 4.2	11.8 \pm 2.0	6.0 \pm 4.6*

*Different from control at p<0.05 by Student's t-test.

3. 마취된 Guinea pig에서 苦蔘 Ethyl acetate N10-16-2와 N10-16-9 소분획층의 효과

Ovalbumin로 수동적으로 감작시킨 guinea pig를 마취하고 정맥내로 항원인 OVA를 투여하면 즉시 혈압의 극심한 상승(Pressor response, 약 100 mmHg)이 일어나서 5-6분 후에 정상 혈압의 수준으로 회복된다. 마취 rat에서 관찰된 혈압하강효과(Depressor response)는 관찰되지 않았으며 맥박도 동반하여 현저히 증가되는데 맥박은 혈압과 거의 비슷한 시간내에 회복되었다. 위와 같은 조건에서 N10-16-2와 N10-16-9 소분획층 30, 100mg/kg의 농도로 3일간 구강 투여 한 후 어떤 영향을 미치는지 조사하였다

1) 苦蔘 Ethyl acetate N10-16-2의 효과

N10-16-2 30, 100mg/kg의 농도로 투여한 군의 tachycardia가 각각 61.7bpm, 55.2bpm으로 나타나 대조군에 비하여 각각 56.9%(p<0.05), 61.5%(p<0.05) 유의한 감소를 나타냈으며 심장 박동 회복 시간도 각각 5.5초, 3.2초로 나타나 유의한 감소를 나타냈다. 그러나 basal mean arterial pressure, basal heart rate, pressor response, BP recovery에는 변화를 나타내지 못하였다(Table 6).

2) 苦蔘 Ethyl acetate N10-16-9의 효과

N10-16-9 30, 100mg/kg의 농도로 투여한 군의 pressor response는 각각 47.0mmHg(p<0.05), 62.9mmHg(p<0.05)로 나타나 유의한 감소를 나타냈으며 tachycardia는 100mg/kg의 농도로 투여한 군에서 46.2bpm(p<0.05)로 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다. BP recovery 시간은 각각 2.2초와 2.9초로 나타나 대조군 5.3초에 비하여 유의한 감소를 나타냈으며 심장 박동 회복 시간(HR recovery time)도 100mg/kg의 농도로 투여한 군에서 5.8초로 나타나 대조군 14.8초에 비하여 유의한 감소를 나타냈다. 그러나 basal mean arterial pressure, basal heart rate에는 변화를 나타내지 못하였다(Table 7).

Table 6. Effect of N10-16-2 on cardiovascular anaphylaxis in anesthetized guinea pigs

Parameters	Control	N10-16-2 (mg/kg)	
		30	100
Number of exp.	10	5	5
Basal mean arterial pressure (mm Hg)	49.3 \pm 5.1	51.8 \pm 4.2	49.7 \pm 3.7
Basal heart rate (beats/min)	228.4 \pm 25.6	234.0 \pm 17.3	217.7 \pm 18.0
Pressor response (+ mmHg)	104.4 \pm 21.2	87.3 \pm 11.3	63.7 \pm 12.3
Tachycardia (+ bpm)	143.2 \pm 21.2	61.7 \pm 24.3*	55.2 \pm 7.8*
BP recovery (min)	5.3 \pm 0.7	3.3 \pm 0.3	2.7 \pm 1.3
HR recovery (min)	7.8 \pm 0.7	5.5 \pm 0.4*	3.2 \pm 1.1*

The extract(N10-16-2) was orally administered for three consecutive days before the experiment. Pressor and tachycardiac responses were the peak increase in arterial pressure and heart rate above the basal values. Depressor response was measured at 15 min post-challenge. bpm: beats per min. * Different from Control at p<0.05 by Student's t-test

Table 7. Effect of N10-16-9 on cardiovascular anaphylaxis in anesthetized guinea pigs

Parameters	Control	N10-16-9 (mg/kg)	
		30	100
Number of exp.	10	5	6
Basal mean arterial pressure (mm Hg)	49.3 \pm 5.1	44.4 \pm 6.1	50.3 \pm 5.0
Basal heart rate (beats/min)	228.4 \pm 25.6	219.0 \pm 23.7	218.4 \pm 20.0
Pressor response (+ mmHg)	104.4 \pm 21.2	47.0 \pm 12.8*	62.9 \pm 18.9*
Tachycardia (+ bpm)	143.2 \pm 21.2	87.7 \pm 34.3	46.2 \pm 23.7*
BP recovery (min)	5.3 \pm 0.7	2.2 \pm 0.5*	2.9 \pm 0.3*
HR recovery (min)	14.8 \pm 2.7	11.4 \pm 4.1	5.8 \pm 3.0*

The extract(N10-16-9) was orally administered for three consecutive days before the experiment. Pressor and tachycardiac responses were the peak increase in arterial pressure and heart rate above the basal values. Depressor response was measured at 15 min post-challenge. bpm: beats per min. * Different from Control at p<0.05 by Student's t-test

Table 8. Effects of N10-16-2 and N10-16-9 on histamine release induced by Compound 48/80 and A-23187 from rat peritoneal mast cells

Test groups	Con.	n	Release (% of control)	
			Compound 48/80-induced	A-23187-induced
Control	saline	10	100	100
DSCG	10 μ M	10	55.2 \pm 8.8*	39.5 \pm 6.3*
N10-16-2	100 μ g/ml	11	84.3 \pm 7.9	78.1 \pm 7.1*
N10-16-9	100 μ g/ml	12	77.4 \pm 6.8*	87.4 \pm 10.2

DSCG: disodium cromoglycate (a positive reference). Other legends were described in Material and Methods. * Different from Control at p<0.05 by Student's t-test

4. Mast cell에서 histamine release에 대한 苦蔘 Ethyl acetate N10-16-2와 N10-16-9 소분획층의 효과

苦蔘 ethyl acetate N10-16-2와 N10-16-9 소분획층의 순환기 anaphylaxis에 대한 억제효과 기전을 조사하기 위하여 rat의 macrophage에서 분리한 mast cell에서 compound 48/80과 A-23187에 의하여 유도된 histamine 유리 증가에 대한 억제효과를 조사하기 위하여 100 μ g/ml의 농도로 처리한 후 유리된 histamine의 양을 조사하였다. 그 결과 N10-16-2 소분획층은 compound 48/80에 의한 histamine 유리를 억제하지 못하였으나 A-23187에 의한 histamine 유리를 21.9%($p < 0.05$) 억제시켰다. N10-16-9의 경우에는 compound 48/90, A-23187에 의하여 유리된 histamine양에 비하여 각각 77.4%($p < 0.05$), 87.4%($p < 0.05$)로 나타나 통계적으로 유의한 억제를 나타냈다(Table 8).

고찰

苦蔘(Sophorae Radix)은 豆科에 속한 도둑놈의 지팡이(Sophora flavescens Ait.)의 根으로서¹⁾ 성분은 matrine, oxymatrine이 주요 alkaloid이며 그 외에 sophocarpine, sophoranol, alommatrine, cytisine, methylcystine 등이 포함되어 있다.^{2,18-20)} 실험적으로 苦蔘 물 추출물과 ethyl acetate 추출물이 병태모델에서 순환기 anaphylaxis에 대하여 억제효과가 있다고 보고되었다^{38,39)}.

알레르기 반응 중 순환기의 기능변화는 호흡기의 기능변화와 더불어서 나타나는 중요한 치료분야중의 하나이다⁴¹⁻⁴³⁾. 순환기 anaphylaxis에 대하여 수종의 한약재가 효과가 있다고 보고되었으며⁴⁴⁻⁴⁶⁾ 특히 苦蔘이 실험적으로 유발된 순환기 anaphylaxis에 대하여 억제 효과가 있다고 보고되었다^{38,39)}. 본 연구에서는 권 등³⁸⁾과 김 등³⁹⁾의 보고를 근거로 苦蔘 물 추출물 중 ethyl acetate(EA)에 용해되는 9종류의 소분획층을 한 등의 방법⁴⁰⁾에 의하여 획득한 후 이들의 순환기 anaphylaxis 억제 효과와 그 기전을 조사하였다.

먼저 苦蔘 물 추출물의 EA 소분획층 9종류의 Guinea pig Langendorff heart에서 순환기 anaphylaxis에 대한 억제 효과를 조사하였다. Langendorff heart는 antigen challenge에 의해 나타나는 반응은 급격한 contractile force의 증가(maximal contractile force)와 tachycardia가 나타나며 contractile force는 시간이 지나면서 수축력의 감소(post-challenge contractile force)로 변하며 tachycardia는 arrhythmia로 변하게 되고 arrhythmia가 발생하는 시점에서 coronary flow의 감소도 나타나게 된다⁴⁷⁻⁴⁹⁾. 이때 시간이 지남에 따라 심근의 손상으로 인하여 edema의 발생, 또 생화학적으로 lactate dehydrogenase (LDH)과 creatine kinase의 유출증가가 수반된다⁴⁷⁻⁴⁹⁾. 이들 지표에 대한 9종류의 苦蔘 EA 소분획층(N10-16-1 ~ N10-16-9)의 억제 효과를 조사한 결과 N10-16-2층과 N10-16-9층에서 억제효과를 나타냈다(Table 1, 3). N10-16-2층의 효과는 maximal contractile force의 감소, post-challenge coronary flow의 증가, creatine kinase의 분비 감소를 통하여 순환기 anaphylaxis를 억제하는 것으로 나타났으며 N10-16-9층은 post-challenge contractile force의 증가, post-challenge coronary flow의 증가, arrhythmia 유발 시간의 감소를 통하여 억제효과가 있는 것으로 나타났다. 이들 두 물질의 농도 의존성을 조사하고

자 10, 30, 100 μ g/ml의 농도로 Guinea pig Langendorff hearts에 투여한 후 다양한 지표를 통하여 순환기 anaphylaxis에 대한 억제효과를 조사하였다. Table 4에서 보여주듯이 N10-16-2층은 maximal contractile force를 대조군에 비하여 10 μ g/ml에서 89.5%, 30 μ g/ml에서 75.3%, 100 μ g/ml에서 77.4%로 나타나 유의한 억제를 나타냈다. 또한 post-challenge contractile force와 post-challenge coronary flow의 경우 투여한 농도에 의존적으로 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다. 그리고 부중지표(wet weight/dry weight)와 creatine kinase 누출에서 유의한 감소효과를 나타냈다(Table 4). N10-16-9층은 basal coronary flow는 100 μ g/ml의 농도를 투여한 군에서 대조군에 비하여 41.2%가 증가하였으며 creatine kinase의 누출 양 역시 100 μ g/ml 투여군에서 대조군에 비하여 73.0%가 감소하여 유의성을 나타냈다. 또한 post-challenge contractile force는 투여한 농도에 의존적으로 감소를 나타냈으며 post-challenge coronary flow는 30 μ g/ml, 100 μ g/ml의 농도를 투여한 군에서 각각 대조군에 비하여 82.1%, 93.4%의 증가 효과를 나타냈다. 그리고 arrhythmia duration과 onset 시간, 부중지표에서 유의한 방어효과를 나타냈다. 이상의 결과는 권 등과 김 등의 보고^{38,39)}와 더불어 苦蔘 물 추출물 중 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과를 나타내는 물질은 EA 용해성 물질임을 시사한다 하겠다.

다음으로 苦蔘 EA 소분획층 N10-16-2와 N10-16-9를 Guinea pig에 3일 동안 30mg/kg, 100mg/kg의 농도로 경구투여 한 후 ovalbumin(OVA)를 정맥내로 투여하여 나타나는 순환기 anaphylaxis 증상에 대한 방어효과를 조사하였다. Guinea pig에 OVA를 투여하면 혈압의 극심한 상승이 일어나서 5-6분 후에 정상 혈압의 수준으로 회복되며 맥박도 동반하여 현저히 증가되는데 맥박은 혈압과 거의 비슷한 시간내에 회복되는 증상을 나타낸다^{38,39)}. 그러나 N10-16-2층 30mg/kg, 100mg/kg의 농도로 투여한 군에서 tachycardia는 대조군에 비하여 각각 43.1%, 38.5%로 감소하였으며 심장박동의 회복 시간도 OVA를 투여한 군에 비하여 현저하게 감소하여 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과를 나타냈다(Table 6). 또한 N10-16-9층의 경우 조사한 지표 중 pressor response, tachycardia, BP 회복시간, 심장박동 회복 시간에서 유의한 방어효과를 나타냈다(Table 7). 이상의 결과는 Table 4와 5에서 나타난 결과와 더불어 苦蔘 EA 소분획층 N10-16-2와 N10-16-9층의 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과를 확인한 것으로 사료된다. Guinea pig Langendorff heart에서 나타나는 순환기 anaphylaxis 반응은 serotonin, histamine, thromboxanes, prostaglandins, leukotriens 등과 같은 매개 인자가 발생하여 유발되는데 그 중에 histamine이 주된 요인이 되는 것으로 알려져 있다⁴⁷⁻⁴⁹⁾. 苦蔘 EA 소분획층 N10-16-2와 N10-16-9층의 순환기 anaphylaxis에 대한 억제 기전을 조사하기 위하여 mast cell을 분리하여 compound 48/80과 A-23187에 의해 유도된 histamine 분비에 대한 억제효과를 조사하였다. N10-16-2 소분획층은 compound 48/80에 의한 histamine 유리를 억제하지 못하였으나 A-23187에 의한 histamine 유리를 억제시켰으며 N10-16-9의 경우에는 compound 48/90, A-23187에 의하여 유리된

histamine을 통계적으로 유의하게 억제하였다(Table 8). 이상의 결과는 N10-16-2층과 N10-16-9층은 mast cell로부터 histamine의 유리를 억제하지만 그 기전에 다소 차이가 있다는 것을 시사한다.

이상의 결과로 苦蔘 EA 소분획층 N10-16-2와 N10-16-9층은 실험적으로 유발된 순환기 anaphylaxis에 대하여 방어효과를 나타냈으며 그 기전에 histamine의 유리 억제가 포함되어 있을 것으로 생각되며 앞으로 다양한 병태모형을 통하여 방어 효과기전의 규명이 필요하며 또한 두 분획층에 대하여 NMR 연구 등 성분의 구조확인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

결론

苦蔘 ethyl acetate 용해성 소분획층(N10-16-1~N10-16-9)의 guinea pig langendorff heart의 순환기 anaphylaxis에 대한 방어효과를 관찰하고 rat macrophage에서 분리한 mast cell의 histamine release에 대한 효과를 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

苦蔘 ethyl acetate 용해성 소분획층(N10-16-1~N10-16-9) 중 N10-16-2층은 guinea pig 순환기 anaphylaxis에 대하여 방어효과를 나타냈다. 苦蔘 ethyl acetate 용해성 소분획층(N10-16-1~N10-16-9) 중 N10-16-9층은 guinea pig 순환기 anaphylaxis에 대하여 방어효과를 나타냈다. N10-16-2층은 ovalbumin으로 감작된 guinea pig 순환기 anaphylaxis 반응을 억제하였다. N10-16-9층은 ovalbumin으로 감작된 guinea pig 순환기 anaphylaxis 반응을 억제하였다. N10-16-2층은 mast cell에서 A-23187에 의한 histamine 유리를 억제하였다. N10-16-9층은 mast cell에서 compound 48/80과 A-23187에 의한 histamine 유리를 억제하였다.

이상의 결과로 苦蔘 EA 소분획층 N10-16-2와 N10-16-9층은 순환기 anaphylaxis에 대하여 방어효과를 나타냈으며 그 기전에 histamine의 유리 억제가 포함되어 있을 것으로 생각되며 앞으로 성분의 구조확인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 1997년도 한국 한의학 연구원 한의학 발전 연구 지원 사업 지원에 의하여 수행됨.

참고문헌

1. 吳 普 : 神農本草經, 서울, 醫聖堂, p.7, 1994.
2. 李承武 外 : 急性附子草烏中毒에서 甘豆湯과 苦蔘의 應用, 大韓韓醫學會誌, 14(2):399-405, 1993.
3. 孟憲紆 : 中成藥分析, 北京, 人民衛生出版社, pp.297-298, 1990.
4. 李廣勛 : 中藥藥理毒理與臨床, 河北, 天津科技翻譯出版公司出版, pp. 63-64, 1992.
5. 董黎明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.62-65, 82-83, 330, 451-458, 1986.
6. 張寶鳳 外 : 苦蔘總鹽抗實驗性心律失常作用的研究, 中藥通報, 10(5):37-38, 1985.

7. 黃官綉 : 本草求真, 서울, 醫聖堂, p.145, 1997.
8. 王好古 : 湯液本草, 서울, 醫聖堂, p.111-112, 1994.
9. 唐慎微 : 重修政和經史證類備急本草, 北京, 人民衛生出版社, p.198, 1982.
10. 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 常務印書館香港分館, p.205-206, 1983.
11. 汪 昂 : 本草備要解析, 新竹, 國興出版社, p.186-187, 1985.
12. 李時珍 : 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, p.798-802, 1995.
13. 吳儀洛 : 本草從新, 서울, 행림출판, p.20, 1989.
14. 문관심 : 약초의 성분과 이용, 서울, 일월서각, p.342-344, 1991.
15. 陳嘉謨 : 本草蒙筌, 北京, 人民衛生出版社, p.162, 1988.
16. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 南山堂, p.314-315, 1986.
17. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中華人民共和國藥典, 北京, 人民衛生出版社, p.174, 1985.
18. 江蘇新醫學院 : 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, p.1368-1370, 1982.
19. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, p.658-661, 1979.
20. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.137-138, 1990.
21. 동의학연구소 : 本草學, 서울 여강출판사, p.127-128, 1994.
22. 鄒 澍 : 本經疏證, 上海, 上海科學技術出版社, pp.148-149, 1991.
23. 차진헌 : 실용동약학, 서울, 일월서각, p.513-515, 1990.
24. 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, 2: p.165, 12: p.63, p.137-143, 1994.
25. 全國韓醫科大學肝系內科學教授 : 肝系內科學, 서울, 東洋醫藥研究所, p.212, p.360, p.428, 1989.
26. 李淵台 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, p.33, 1985.
27. 微生物學分科會 : 綜合微生物學, 서울, 學苑社, p.225, p.235-248, 1988.
28. King H. C., W. P., King. : Alternatives in the diagnosis and treatment of food allergies. Otolaryngol. Clin. North Am. 31:141-156, 1998.
29. Furguson, B. J. : Cost-effective pharmacotherapy for allergic rhinitis. Otolaryngol. Clin. North Am. 31:91-100, 1998.
30. Warner, J. O. : Early treatment of atopic child. Pediatr. Allergy Immunol. 8:46-48, 1997.
31. Bone, R. C. : Goals of asthma management: a step-care approach. Chest 109:1056-1065, 1996.
32. Suonpaa, J. : Treatment of allergic rhinitis. Ann. Med. 28: 17-22, 1996.
33. Becker, D. E. : Management of immediate allergic reactions. Dent. Clin. North Am. 39:577-586, 1995.
34. 康秉秀 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 成輔社, p.22-23, p.64-68, p.70-73, p.369-374, p.380, 1988.
35. 侯阿兩 外 : 苦蔘藥用綜論, 中醫藥學報, 3(48), 1994.
36. 邱建榮 外 : 苦蔘在心血管疾病中的應用, 浙江中醫雜誌, p. 473, 1995.
37. 李 丹 外 : 苦蔘鹽類生物鹽的研究進展及臨床應用, 中草藥, 27(5):308-310, 1996.

38. 권강범, 김구환, 전영석, 조현익, 김영석, 박관하, 백승화, 류도곤. 苦蔘 전탕액 분획물이 순환기 Anaphylaxis에 미치는 영향, 대한한의학회지, 21(2):37-42, 2000.
39. 김상범, 권강범, 박준수, 박관하, 류도곤. 苦蔘 유기용매 분획층이 적출 심장에 미치는 영향, 동의생리병리학회지, 16(1): 160-171, 2002.
40. 한두석 외 5인 : 한국산 생약으로부터 항암물질의 개발(제 6 부); 금은화 · Ethyl Acetate 가용성 분획의 인체 구강유상피암 종세포에 미치는 독성작용, 한국생약학회지, 29(1):22-27, 1998.
41. Berg T, Schlichting E, Ishida H and Carretero OA. : Kinin antagonist does not protect against the hypotensive response to endotoxin, anaphylaxis or acute pancreatitis. J. Pharmacol. Exp. Ther. 251:731-734, 1989.
42. Levi R. Cardiac anaphylaxis: Models, mediators, mechanisms, and clinical considerations. p.93-105, In: Humaninflammatory disease, Clinical Immunology vol. 1, Marone eds., Decker, Toronto, 1988.
43. Melli G., Folli G., Mazzei D., Vitolo E., Sacchi A. : Shock organ and shock tissue in various animal species. Acta Allergol. (Kbh) 18:188-210, 1963.
44. 권강범, 이호섭, 서은아, 김인숙, 박관하, 류도곤. 순환기 anaphylaxis 저해제 개발에 대한 연구(II). 대한한국진단학회지 3(2):94-100, 1999.
45. 권강범, 민영기, 조현익, 박준배, 송봉길, 박관하, 류도곤. 순환기 anaphylaxis 저해제 개발에 대한 연구(I). 동의생리학회지, 21:37-44, 2000.
46. 권강범, 민영기, 조현익, 송봉길, 김강진, 박관하, 류도곤. 수종의 한약재가 순환기 anaphylaxis에 미치는 영향. 동의생리학회지, 21:169-176, 2000.
47. Vleeming W., H. H. van Rooij, J. Wemer, A. J. : Porsius. Characterization and modulation of antigen -induced effects in isolated rat hearts. J. Cardiovasc. Pharmacol. 18:556-565, 1991.
48. Allan G., R. Levi. : Thromboxane and prostacyclin release during immediate hypersensitivity reactions in vitro. J. Pharamcol. Exp. Ther. 217:157-161, 1981.
49. Liebig R., W. Bernhauer, B. A. Peskar : Prostaglandin, slow-reacting substance and histamine release from anaphylactic guinea-pig hearts and its pharmacological modification. Arch. Pharmacol. 289:65-76, 1975.