

## 射干麻黃湯 및 〈石室秘錄〉逆醫法方이 호흡기 점액의 분비에 미치는 영향

심성흠, 이주일, 정영재, 서운교  
동국대학교 한의과대학 폐계내과학교실

### The Effects of *Saganmahwang-tang* and prescription C on airway mucin secretion

Sung-Heum Sim, Ju-il Lee, Young-Jae Jung, Woon-Gyo Suh  
Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

#### ABSTRACT

**Objectives** : This study was done to investigate whether two oriental prescriptions, *saganmahwang-tang* (SMT) and prescription C (P-C) significantly affect mucin release from cultured hamster tracheal surface epithelial (HTSE) cells.

**Methods** : Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of SMT or P-C to assess the effect of each agent on 3H-mucin release. Possible cytotoxicities of each agent were assessed by measuring lactate dehydrogenase (LDH) release. Also, the effects of SMT and P-C on contractility of isolated tracheal smooth muscle were investigated.

**Results** : SMT significantly inhibited mucin release from cultured HTSE cells, without cytotoxicity. P-C significantly increased mucin release from cultured HTSE cells, with significant cytotoxicity. SMT inhibited Ach-induced contraction of isolated tracheal smooth muscle. P-C did not affect Ach-induced contraction of isolated tracheal smooth muscle.

**Conclusion** : Results suggest that SMT and P-C have regulating effects on mucin secretion from airway goblet cells. Further investigation is needed, because of the value in finding novel agents to this purpose, and these oriental medical prescription have potential for such a role.

**Key words**: airway, mucus, mucin, *saganmahwang-tang* (SMT) and prescription C (P-C)

### 1. 서 론

인간의 호흡기에 존재하는 mucus(점액)은 섬모

세포와의 협동적 작용을 통해 인체에 불필요하거나 혹은 유해한 물질의 제거에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 호흡기 점액의 인체 방어 기능은 주로 점액의 구성요소인 mucin(점액소)의 점성 및 탄성에 기인하는데, 이러한 mucin의 양과 질의 이상은 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어 작용에 영향을 주어 병리 현상을 유발할 수 있으며, 이로 인해 야기되는 재담 혹은 점

· 접수일 : 2006년 2월 13일 · 채택일 : 2006년 2월 25일  
· 교신저자 : 이주일 경기도 성남시 분당구 수내동 87-2번지  
동국대학교 분당한방병원 6층 의국  
전화 : 031-710-3734 Fax : 031-710-3734  
E-mail : jileeomd@hanmail.net

액의 과다 분비는 일련의 호흡기 질환의 예후를 악화시키는 주된 요인으로 알려져 있다?

현재, 서양의학 체계에서는 이러한 과다 분비된 점액의 점도 및 분비를 조절하기 위해 여러 치료법이 사용되고 있으나, 그 효능 및 응용 범주에 제한이 있어 적절한 약물치료를 시행하기 쉽지 않은 실정이다?

韓醫學에서도 천식의 발생원인 및 병리과정 중의 산물로 痰을 증시하였으며, <金匱要略·痰飲欬嗽病脈證并治第十二> 에서 '膈上病, 痰滿喘欬, 發則寒熱, 背痛腰疼, 目泣自出, 其人振振身瞤劇, 必有伏飲'이라 하여 伏飲과 喘證의 발생관계를 기술하였고, <丹溪心法> 에서도 喘息의 病因을 '氣虛, 陰虛, 有痰'이라 하였다.

따라서 본 연구에서는 호흡기 mucin의 약리 연구에 보편적으로 사용되는 일차배양 햄스터 기관 표면 상피(HTSE)세포를 이용하여 6 천식 발병 시에 다용되는 射干麻黃湯 및 <石室秘錄>逆醫法에 기재되어 있는 처방의 효능을 실험적으로 규명하고자 이들 처방의 효능 중 재담의 생성 및 과다분비 조절, mucin 분비에 미치는 영향, 평활근의 수축도에 미치는 영향을 조사하였으며, 동시에 새로운 호흡기 점액 조절약물로서의 응용 가능성을 검증하고자 하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 실험동물

일차배양 기관표면 상피세포를 얻기 위해, 8-10 주령의 음성 Golden Syrian 햄스터 및 적출 기관 평활근에 대한 약물의 영향을 알아보기 위해 체중 1.5Kg의 건강한 백색 가토(Albino rabbit)을 실험동물 전문 사육업체에서 공급받은 후 사용하였다.

#### 2) 약재

射干麻黃湯(SMT)의 구성약물(射干, 麻黃, 生薑,

細辛, 紫菀, 款冬花, 五味子, 大棗, 半夏) 및 <石室秘錄>逆醫法方(P-C)의 구성 약물(地骨皮, 沙蔘, 麥門冬, 甘草, 白芥子, 牡丹皮, 桔梗, 白芍藥)은 동국대학교 분당한방병원 약제실에서 공급받아, 원내 처방집에 기재된 처방대로 조제하였다.

Table 1. The composition and dosage of Saganmahwang-tang

Constituent herbs	Scientific name	Dose(g)
射干	Belamcandae Rhizoma	3.75
麻黃	Ephedrae Herba	5.00
生薑	Zingiberis Rhizoma Recens	5.00
細辛	Asari Herba Cum Radice	3.75
紫菀	Asteris Radix	3.75
款冬花	Farfarae Flos	3.75
五味子	Schizandrae Fructus	6.00
大棗	Jujubae Fructus	6.00
半夏	Pinelliae Rhizoma	7.50

### 3) 시약

Pronase (Type XIV), insulin, transferrin, epidermal growth factor, hydrocortisone, sodium selenite, testicular hyaluronidase (Type VI-S), retinoic acid, gentamicin, sodium dodecyl sulfate.

Table 2. The composition and dosage of P-C

Constituent herbs	Scientific name	Dose(g)
地骨皮	Lycii Radicis Cortex	20.00
沙 蔘	Adenophorae Radix	20.00
麥門冬	Liriodis Tuber	10.00
甘 草	Glycyrrhizae Radix	6.00
白芥子	Sinapis Semen	4.00
牡丹皮	Moutan Cortex	4.00
桔 梗	Platycodi Radix	2.00
白芍藥	Paeoniae Radix Alba	2.00

Sepharose CL-4B, acetylchoilne 등은 Sigma사(St. Louis, Mo., U.S.A.)에서, penicillin-G, streptomycin, Joklik- modified Minimal Essential Medium (S-MEM), Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DME), fetal bovine serum(FBS), Medium 199 (M199)등은 GIBCO-BRL사(Grand Island, New York, U.S.A.)에서, [6-3H] glucosamine (39.2 Ci/mmol)은 Amersham사(U.S.A.)에서, type I collagen은 Regenmed (Seoul, Korea)에서, LDH assay kit (LDH-LQ)은 Asan Pharmaceuticals (Seoul, Korea)에서, sodium acetate 등과 기타 일반시약들은 reagent grade 이상의 것들을 구입하여 사용하였으며, 실험에 사용된 물은 탈이온 2차 증류수이었다.

2. 방법

1) 검액의 조제

각 방제 한 첩 분량에 800ml의 탈이온 2차 증류수를 가하고 100℃로 가온된 상태에서 3시간 동안 전탕하여, 80ml의 탕액을 수거하였다. 각 탕액을 실온 정도로 식힌 후, 멸균 청정 후드 내에서 0.22µm filter를 이용, 가압 여과하고 멸균용기에 저장하여, 4℃ 냉장고에 보관하였다.

2) 햄스터 기관표면 상피세포의 분리 및 배양  
 햄스터 기관표면 상피세포 분리와 배양에 적용된 실험방법은 Kim 7-9 등과 Wu 10,11 등의 방법을 적절히 변형, 사용하였다. 세포들이 1-3일간 배양된 후에는, 37℃로 조절된 세포배양기에서 32℃로 조절된 세포배양기로 옮겨서 배양했다. 배양액 교체는, 배양 개시 후 제 1, 3, 5, 7일에 각각 시행하였다.

3) Mucin의 대사적 방사능 표지

Kim 7 등과 여타 연구자들의 방법 12-14을 이용하였는데, 배양세포 중의 mucin은, 성숙한 배양세포(24 well plate, 5x10<sup>5</sup> cells/well)에, 10µCi/ml의 [6-3H] glucosamine (39.2 Ci/mmol, Amersham)을 함유하는 완전배양액(insulin (5µg/ml), transferrin (5µg/ml), epidermal growth factor (12.5ng/ml), hydrocortisone (0.1µM), sodium selenite (0.01µM), fetal bovine serum (5%, V/V)(이하 FBS), retinoic acid (0.1µM), penicillin G (100 U/ml), streptomycin (100µg/ml), gentamicin (50µg/ml)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DME)과 Medium 199(M199)의 1:1 혼합 배양액)을 well당 200µl씩 가하고 32℃에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 표지 (metabolic radiolabeling)되었다.

4) 세포에의 방제 추출물 투여

24시간 동안의 대사적 방사능 표지가 완료된 후 배양액 (pretreatment sample, 이하 PT로 약칭)을 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5ml의 Dulbecco's Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>-free PBS(Phosphate-Buffered Saline)를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사 등을 제거한 뒤, 각 방제 추출물 20 - 8µl를 함유하는 PBS 200µl를 well마다 가하고 32℃에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액을 수거하여, treatment sample (이하 T sample)로 정의하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50µl의 상등액은 LDH activity assay

를 위해 따로 털어두고 나머지는 방사성 mucin 함량을 측정할 때까지 -70°C에서 냉동 저장했다

9.12-14.

5) Mucin 함량 측정법

Hyaluronidase에 의해 분해되지 않으며, Sepharose CL- B column으로부터 exclude되는 고분자량의 glycoconjugate를 mucin으로 정의하였고, Kim 등의 방법 9.12-15에 따라 방사성 mucin의 함량을 측정하였다.

6) 배양세포의 세포질로부터 유리된 LDH activity assay

배양세포 중의 mucin은, 다 자란 배양세포(24 well plate, 5x10<sup>5</sup> cells/well)에, 10 $\mu$ Ci/ml의 [6-3H] glucosamine (39.2 Ci/mmol, Amersham)을 함유하는 완전배양액을 well당 200 $\mu$ l씩 가하고 32°C에서 24시간 동안 배양함으로써 방사능 표지하였고, 방사능 표지가 완결된 후 spent medium은 수거해 두었다. 배양세포에 well당 0.5ml의 PBS를 가하고 세척하는 조작을 2회 반복함으로써 배양세포의 잔사등을 제거한 뒤, 각 방제 추출물 20-80 $\mu$ l를 함유하는 PBS 200 $\mu$ l를 well마다 가하고 32°C에서 30분간 배양하였다. 30분의 배양이 끝난 뒤 반응액(T sample)을 수거하였다. 수거된 모든 sample들은 원심분리하여 부유세포 기타 잔사를 제거하고, 50 $\mu$ l의 상등액을 LDH activity assay에 사용했다. LDH 활성 측정은 commercial kit (Asan Pharmaceuticals, LDH-LQ)을 이용하였다 12B.

7) 적출 기관 평활근에 대한 약물의 영향

체중 1.5kg 정도의 건강한 백색 가토(Albino rabbit)를 이산화탄소를 이용하여 질식사시킨 후, 즉시 기관 전체를 적출하여 Tyrode 용액으로 세척하고, 주위 조직을 조심스럽게 제거하였다. 기관을 가로 방향으로 절취하여 기관 연골 3-5개를 포함하는 기관근 절편 표본을 제작하였다. 이렇게 얻어진 표본을 Tyrode 영양액이 들어있는 chamber(Magnus 장치)의 하단에 고정하고 상단은 isometric transducer에 연결, physiograph를 이용,

수축 정도를 측정하였다. 기관 표본에 5g의 정지장력(resting tension)을 가하고, 37°C, 산소 공급 하에서 약 1시간 동안 15분 간격으로 세척하면서 안정화시켰다. 이 적출 표본에, 방금 조제된 acetylcholine 용액 2 x 10<sup>-4</sup>g/ml를 투여하여 최고 수축고를 측정한 다음, 세척하고, 15분간 안정화시켰다. 약물에 의한 기관 수축 억제효과(기관 평활근 이완 효과) 측정은, Magnus 장치에 담긴 Tyrode solution 50ml 당 각 방제 추출액 50 - 500  $\mu$ l를 투여(전처치)하고, 5분간 방치한 다음 acetylcholine 용액 2 x 10<sup>-4</sup>g/ml를 투여하여, 각 약물을 투여하기 전 acetylcholine 단독투여에 의한 수축고와 비교함으로써 시행하였다.

8) 통계처리

모든 측정 결과는 Mean $\pm$ S.E.M.으로 환산된 후, 약물 처리군의 측정치는 대조군 측정치의 백분율로 나타냈다. 통계처리는 unpaired Student's t-test로 하였으며, p<0.05인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

III. 실험결과

1. SMT가 일차배양 HTSE 세포로부터의 mucin분비에 미치는 영향.

대조군( $\mu$ /200 $\mu$ l PBS) 투여농도에서 mucin분비는 100 $\pm$ 4%이었다. 최종 추출물 20 $\mu$ l/200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 60 $\pm$ 8%, 40 $\mu$ l/200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 63 $\pm$ 1%, 80 $\mu$ l/200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 62 $\pm$ 7%을 나타냈다. 따라서, 최종 추출물 80 $\mu$ l/200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서 mucin분비를 30% 가량 감소시켰다.(Fig. 1)

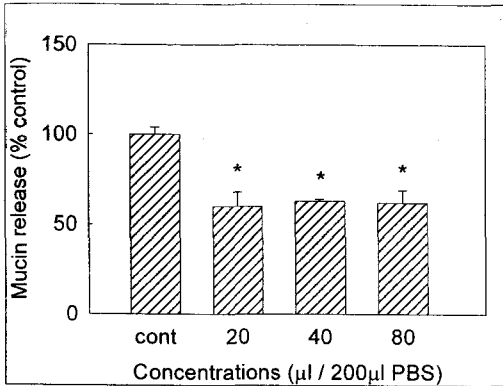


Fig. 1. Effects of SMT on mucin release from airway goblet cells

Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of SMT extracts and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.

\*: significantly different from control(p<0.05).

2. P-C가 일차배양 HTSE 세포로부터의 mucin분비에 미치는 영향.

대조군(μl/200μl PBS) 투여농도에서 mucin분비는 100±6%이었으며, 최종 추출물 20μl/200μl PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 286±62%, 40μl/200μl PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 339±67%, 80μl/200μl PBS의 투여 농도에서 mucin분비는 343±84%을 나타냈다. 따라서, 최종 추출물 80μl/200μl PBS의 투여 농도에서 mucin분비를 250% 가량 증가시켰다.

Fig. 2)

3. SMT가 일차배양 HTSE 세포로부터의 LDH 분비에 미치는 영향.

대조군(μl/200μl PBS) 투여농도에서 LDH분비는 100±11%이었다. 최종 추출물 20μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 105±8%, 40μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 85±8%, 80

μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 106±11%을 나타냈다. 따라서, 최종 추출물 20~80μl/200μl PBS의 투여 농도에서 세포독성의 한 지표인 LDH 분비에 유의성 있는 영향을 발현하지 않음으로써 세포독성을 나타내지 않을 가능성을 보였다.(Fig. 3)

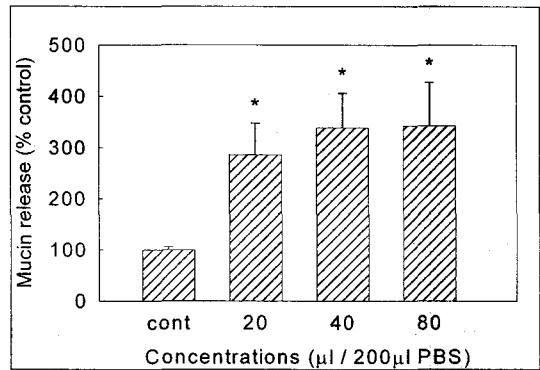


Fig. 2. Effects of P-C on mucin release from airway goblet cells

Confluent HTSE cells were metabolically radiolabeled with 3H-glucosamine for 24 hrs and chased for 30 min in the presence of varying concentrations of P-C extracts and the amount of 3H-mucins in the spent media was measured. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.

\*: significantly different from control(p<0.05).

4. P-C가 일차배양 HTSE 세포로부터의 LDH 분비에 미치는 영향.

대조군(μl/200μl PBS) 투여농도에서 LDH분비는 100±27%이었으며, 최종 추출물 20μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 152±12%, 40μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 278±23%, 80μl/200μl PBS의 투여 농도에서 LDH분비는 305±42%을 나타냈다. 따라서, 최종 추출물 80μl/200μl PBS의 투여 농도에서 세포독성의 한 지표인 LDH 분비를 대조군의 3배 가량 증가시켰다.(Fig. 4)

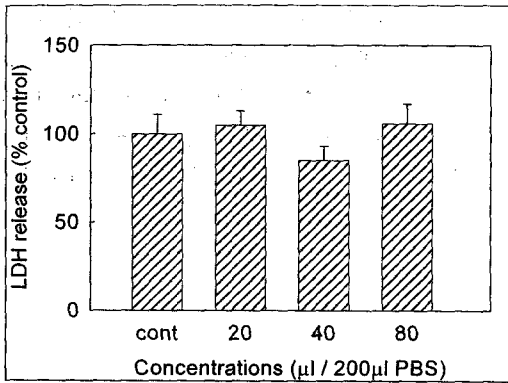


Fig. 3. Effects of SMT on LDH release from airway goblet cells

Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of SMT extracts for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.

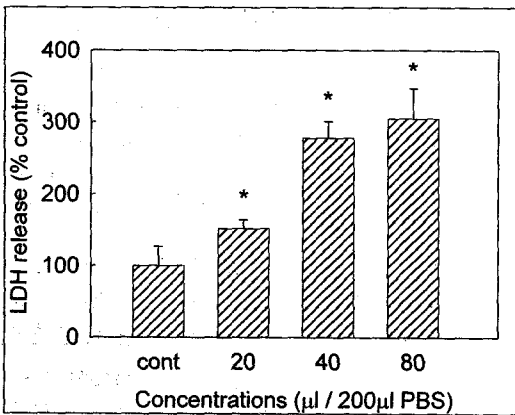


Fig. 4. Effects of P-C on LDH release from cultured HTSE cells

Confluent HTSE cells were treated with varying concentrations of P-C extracts for 30 min and supernatants were collected for LDH activity assay at the end of the treatment. Each bar represents a mean±S.E.M. from 4 culture wells.

\*: significantly different from control( $p < 0.05$ ).

5. SMT가 적출된 토끼 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향.

최종 추출물 50μl/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2×10<sup>-4</sup>g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상을 5% 가량 억제하였으며, 최종 추출물 500μl/Tyrode solution 50 ml의 투여 농도에서는 수축 현상을 70%가량 억제하였다.(Fig. 5)

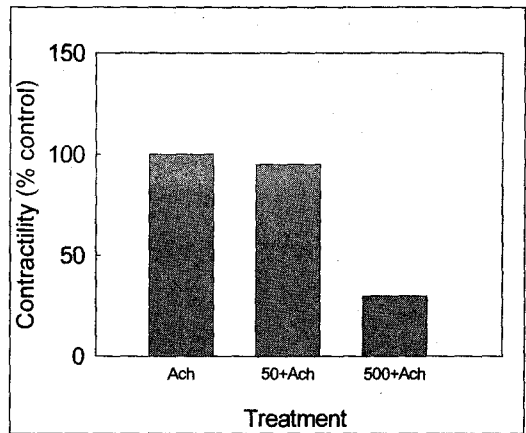


Fig. 5. Effects of SMT on contractility of isolated tracheal smooth muscle

Isolated tracheal smooth muscle of rabbit was prepared and effect of SMT extracts on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach : acetylcholine)

6. P-C가 적출된 토끼 기관 평활근의 긴장도에 미치는 영향.

최종 추출물 50μl/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2×10<sup>-4</sup>g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상을 10% 가량 억제하였으며, 최종 추출물 500μl/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서는 수축 현상을 3% 가량 증가시켰다. 따라서, 최종 추출물 50~500μl/Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에

서  $2 \times 10^{-4}$ g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다.(Fig. 6)

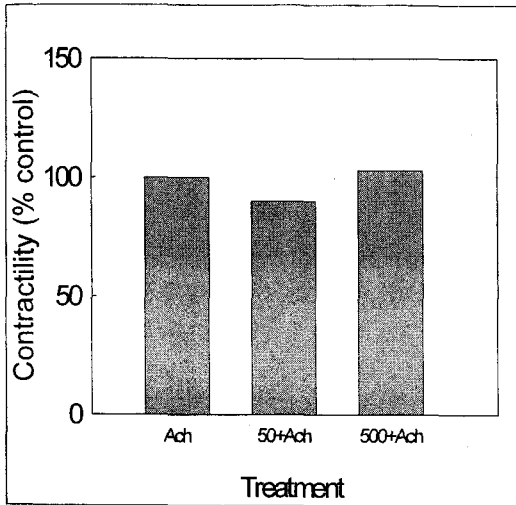


Fig. 6. Effects of P-C on contractility of isolated tracheal smooth muscle

Isolated tracheal smooth muscle of rat was prepared and effect of P-C extracts on acetylcholine-induced contraction was measured as described in Materials and Methods. (Ach : acetylcholine)

#### IV. 고 찰

본 연구의 목표는 한의학적으로 호흡기 질환의 치료에 사용해 왔던 방제인 射干麻黃湯 및 <石室秘錄> 逆醫法方의 호흡기 점액 분비에 대한 객관적 영향을 규명하고자 하는 것이었다. 서양의학적으로 호흡기 mucin의 분비를 증가시키는 것으로 알려진 물질로는 삼인산화 아데노신(adenosine triphosphate), 종양괴사 인자(tumor necrosis factor) 등 인체의 염증 진행과정에서 확인되는 내인성 물질 및 phorbol ester, 염화 암모늄, 요오드화 칼륨, bromhexine, ambroxol 등의 약물이 있으나,

뚜렷한 祛痰효과를 나타내면서도 임상에서 적절히 활용하기에는 여러 가지 문제점이 있는 것으로 알려져 있다 3E.

射干麻黃湯은 張仲景의 <金匱要略>에 처음 소개된 處方으로, '咳而上氣, 喉中水雞聲, 射干麻黃湯主之'라고 하여 그 주치증을 기술하고 있다. 清代에 魏荔彤은 그의 저서인 <金匱要略方論本義>에서 咳而上氣는 寒冷氣逆한 것을 말하는 것이고, 喉中水雞聲은 肺鬱되어 聲音喘促한 것을 의미한다하여 현대의학의 천식과 그 유사점을 찾을 수 있다 하겠다. 射干麻黃湯方은 射干, 麻黃, 生薑, 細辛, 紫菀, 款冬花, 五味子, 大棗 그리고 半夏로 이루어져 있으며, 方中の 射干은 君藥으로 胸中熱氣를 흠뜨리고 麻黃, 生薑, 細辛은 表鬱을 흠뜨리는 作用을 하며 紫菀, 款冬花, 五味子は 肺氣를 收斂함과 동시에 潤하게 하며 半夏는 開鬱하는 作用을 하고 大棗는 補中の 意味가 있어 천식에 다용되는 처방이다.

射干麻黃湯은 최종 추출물 80 $\mu$ l/200 $\mu$ l PBS의 투여농도에서, mucin분비를 대조군보다 30% 가량 감소시켰다. 임상적 혹은 기초학적인 연구결과 보고에 따르면, 호흡기 mucin의 분비를 감소시키는 것으로 알려진 물질로는 서양의학 체계에서 다양한 염증성 질환의 치료제로 응용되는 부신피질 호르몬(당질 코르티코이드)이 대표적이며 3 최근 양이온을 다량 함유하는 염기성 아미노산의 폴리머 등이 호흡기 mucin분비를 억제하는 물질로서 보고되었다 4. 그러나, 이러한 약물들은 그 다양한 약리작용 및 부작용 등으로 인해 호흡기 질환의 임상에서 적절히 응용되기에는 많은 제한이 따르고 있다. 또한, 방제 중에서 小青龍湯이 mucin의 분비를 억제할 가능성이 있는 것으로 보고되어 있으며 5, 이러한 보고는 기타의 麻黃 배합방제들도 mucin분비를 억제할 가능성을 시사한다고 볼 수 있을 것이다. 본 연구의 결과, 射干麻黃湯에서도 그와 유사한 약리작용이 나타났음을 알 수 있으며, 지속적인 연구를 통하여 射干麻黃湯 자체 혹은 방제를

구성하는 개별 본초를 대상으로 한 mucin분비 억제효능의 검증을 통하여, 새로운 작용기전을 가진 신약물의 개발에 한 단서를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

P-C 處方은 中國 清代 陳士鐸의 <石室秘錄>逆醫法 處方에 기재된 處方으로 喘證이 심해진 경우 사용하는 처방이다. 이 文獻을 살펴보면 喘證이 심해지면 腎의 火炎이 肺金을 태워서, 그 熱이 肝木을 傷하게 하여 升勝함으로 분홍색의 痰을 吐하게 된다고 하였는데, 이러한 경우는 마땅히 內熱을 다스리는 처방을 사용하여야 한다고 하였다. 逆醫法方은 地骨皮, 沙蔘, 麥門冬, 甘草, 白芥子, 牡丹皮, 桔梗 그리고 白芍藥으로 구성되어 있어 地骨皮로써 骨과 肉의 內熱을 다스리고 沙蔘, 牡丹皮로써 長養하고 白芍藥으로써 水中의 火를 다스리고 麥門冬으로써 肺中の 火를 다스리며 甘草, 桔梗을 加함으로써 肺經으로 引經하게 되어 痰嗽가 없어지면서 喘息이 安靜된다.

逆醫法方의 최종 추출물 80 $\mu$ /200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서 mucin분비를 250% 가량 증가시켰으므로, 射干麻黃湯과는 반대되는 약리작용을 보여주었다. 하지만 자세한 기전의 규명을 위해서는 방제 자체 혹은 방제를 구성하는 본초를 대상으로 한 연구가 반드시 이루어져야 할 것으로 판단되며, 서양의학적 시각에서 보면 逆醫法方은 祛痰약물로 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

또한, 본 연구에서는, 배양된 호흡기 상피세포에 투여된 방제들이 세포에 대한 직접적인 독성을 발현할 가능성을 검증하고자 하였다. 세포독성의 지표에는 여러 가지가 있겠으나, 본 연구에서는 세포막이 손상되었을 때 세포질 외부로 유출되는 LDH의 활성을 지표로 하여 세포독성을 검증하였다

또, 射干麻黃湯의 경우, 최종 추출물 20 - 80 $\mu$ /200 $\mu$ l PBS의 투여 농도에서, LDH 분비에 유의성 있는 영향이 나타나지 않았다. 이러한 결과는 射干麻黃湯이 배양된 호흡기 상피세포에 대해 세포막 손상을 일으키지 않음으로

써 독성을 나타내지 않을 가능성을 시사하는 결과인 것이다. 이에 반해, 逆醫法方의 경우에는, 대조군보다 3배 이상의 LDH 분비를 증가시키는 결과를 보임으로써 이 방제가 배양된 호흡기 상피세포에 대해 유의성 있는 세포막 손상을 일으킬 가능성을 보여주고 있다. 그러나 본 연구의 결과만으로 이 방제가 실제로 인체에 투여되었을 때 세포독성을 유발할 가능성이 있을 지 여부를 판정하기는 어려울 것으로 사료되며, 세포독성 측정을 위해 사용되는 다양한 방법론을 적용, 추가적인 독성 연구를 시행해야 할 필요성이 있을 것으로 판단된다.

한편, 본 연구에서는 射干麻黃湯 및 逆醫法方이 적출된 토끼 기관 평활근의 수축도에 미치는 영향을 검증함으로써 천식 등의 기관 평활근 수축 상태에서 두 방제에 의한 기관 평활근 이완 효능을 검증하고자 하였다. 실험결과에서 볼 수 있듯이, 射干麻黃湯은 최종 추출물 500 $\mu$ /Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2 $\times$ 10<sup>-4</sup>g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축을 70% 가량 억제하는 결과를 보여주었다. 그러나, 逆醫法方은 최종 추출물 50-500 $\mu$ /Tyrode solution 50ml의 투여 농도에서, 토끼 적출 기관에서 2 $\times$ 10<sup>-4</sup>g/ml 농도의 acetylcholine으로 유발된 수축 현상에 영향을 주지 못하였다. 이러한 결과로 볼 때, 射干麻黃湯은 기관 평활근의 긴장도에 직접적인 영향, 즉 기관 혹은 기관지에 대한 직접적인 확장효과를 발현함으로써 抗喘息 효능을 나타낼 가능성이 있으며, 방제에 함유된 麻黃 등에 의해 기관지 평활근 이완이 유발된 것으로 추측할 수 있다.

그러나, 확정적인 抗喘息 효과의 검증을 위해서는, 실험적으로 천식을 유발한 흰쥐의 기도저항 및 점액의 생성에 미치는 영향 등을 규명하는 과정, 즉 in vivo에서의 각 방제의 抗喘息 활성의 검증 과정이 필요할 것으로 판단된다. 결론적으로, 이상의 연구결과들은 방제 자체의 in vivo 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 방제 구성 본초



와 mucin 분비 간의 상관성에 관한 부가 연구의 필요성을 제시하고 있으며, 射干麻黃湯의 mucin분비 감소작용을 이용한 새로운 작용기전의 호흡기 점액분비 조절약물의 개발 가능성 및 逆醫法方의 mucin분비 증가현상을 이용한 새로운 祛痰약물의 개발 가능성을 제시하고 있는 것이다.

## V. 결 론

射干麻黃湯(SMT) 및 〈石室秘錄〉逆醫法方(P-C)이 호흡기 점액의 분비에 미치는 영향에 관한 실험을 통하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SMT는 호흡기 배상세포에서의 mucin분비를 감소시켰으며, 세포독성을 발현하지 않았다.
2. P-C는 호흡기 배상세포에서의 mucin분비를 증가시켰으나, 세포독성을 발현할 가능성을 보였다.
3. SMT는 토끼 적출 기관 평활근 수축을 억제함으로써 기관 평활근 이완효 과를 보일 가능성을 시사하였으나, P-C의 경우에는 기관 평활근 이완효 과를 보이지 않았다.

상기의 연구결과들은, 방제에 대한 in vivo 상태에서의 약리작용에 대한 후속연구 및 각 방제 구성분초와 mucin 분비간의 상관성에 관한 부가 연구의 필요성을 제시하고 있으며, SMT의 mucin분비 감소작용을 이용한 새로운 작용기전의 호흡기 점액분비 조절약물의 개발 가능성 및 P-C의 mucin분비 증가현상을 이용한 새로운 祛痰약물의 개발 가능성을 제시하고 있다.

## 참고문헌

1. Newhouse MT, and Biennenstock J. Respiratory tract defense mechanism In textbook of pulmonary disease (Baum GL, and Wolinsky E(eds)). 3rd ed Little Brown

- and Company, p.2-47.
2. Frigas E, Loegering DA, Solley GO, Farrow GM, Gleich GJ. Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. Mayo Clin Proc. 1981;56:345-53.
3. Mutschler E, Derendorf H. Drug actions. Boca Raton, Florida: CRC press Inc; 1995. p.410-1.
4. 魏荔彤 撰. 金匱要略方論本義. 서울: 남형문화(주); 2000, p.226-7.
5. 喘息의 原因에 關한 東西醫學的考察. 韓醫學研究所 東義韓醫研 第4輯. 2000;12:89.
6. Kim KC, Opaskar Hincman H, Bhaskar KR. Secretions from primary hamster tracheal surface epithelial cells in culture, Mucin-like glycoproteins, proteoglycans and lipids. Exp Lung Res. 1989;15:299-314.
7. Kim KC, Rearick JI, Nettesheim P, Jetten AM. Biochemical characterization of mucous glycoproteins synthesized and secreted by hamster tracheal epithelial cells in primary culture. J Biol Chem. 1985;260:4021-7.
8. Kim KC, Brody JS. Gel contraction causes mucin release in primary hamster tracheal epithelial cells growing on a collagen gel. J Cell Biol. 1987;105, 158.
9. Kim KC. Possible requirement of collagen gel substratum for production of mucinlike glycoproteins by primary rabbit tracheal epithelial cells in culture. In Vitro. 1985;21:617-21.
10. Wu R, Smith D. Continuous multiplication of rabbit tracheal epithelial cells in a defined hormone-supplemented medium. In Vitro. 1982;18:800-12.
11. Wu R, Nolan E, Turner C. Expression of tracheal differentiated function in serum-free

- hormone-supplemented medium. *J Cell Physiol.* 1985;125, 167-81.
12. Ko KH, Lee CJ, Shin CY, Jo MJ, Kim KC. Inhibition of mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides. *Am J Physiol.* 1999;277(21):811-5.
  13. Lee CJ. Specificity in the inhibition of mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides. *J Appl Pharmacol.* 2001;9(3):218-23.
  14. 이충재. 설치류 기관 mucin유리 억제에서의 폴리양이온성 작용기전. 서울대학교 대학원. 1997.
  15. Cheng PW, Sherman JM, Boat TE, Bruce M. Quantitation of radiolabeled mucous glycoproteins secreted by tracheal explants. *Anal Biochem.* 1981;117, 301-6.
  16. Kim KC, Zheng QX, Van Seuningen I. Involvement of a signal transduction mechanism in ATP-induced mucin release from cultured airway goblet cells. *Am J Cell Mol Biol.* 1993;8:121-5.
  17. 배한호, 이정은, 한영주, 박양춘. 생쥐의 B 세포에서 IgE의 분비와 Cytokine 생산에 대한小青龍湯의 效果. 대한한방내과학회지. 2003; 24(2):249-259.
  18. 배오성譯. 國譯 石室秘錄. 서울:書苑堂; 2000, p.34-6.
  19. Freshny. Measurement of viability and cytotoxicity In Culture of animal cells (3rd edn). Willey-Liss Inc; 1994, p.288.
  20. Yu XY, Schofield BH, Croxton T, Takahashi N, Gabrielson EW, Spannhake EW. Physiologic modulation of bronchial epithelial cell barrier function by polycationic exposure. *Am J Respir. Cell Mol Biol.* 1994;11:188-98.