Journal of Radiation Industry 3(4) : 287~291 (2009)

방사선 조사된 천연약용식물의 수동 피부 아나필락시 억제 효과

최보람 · 권희정 · 김용수 · 임윤묵 · 노영창*

한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소

Inhibitory Effects on Passive Cutaneous Anaphylaxis of Gamma-irradiated Natural Herbal Extracts

Bo-Ram Choi, Hui-Jeong Gwon, Yong-Soo Kim, Youn-Mook Lim and Young-Chang Nho*

Advanced Radiation Technology Institute, Korea Atomic Energy Research Institute, Jeongeup 580-185, Korea

Abstract - The allergenicity of natural herbal extracts (NHE) was evaluated by a passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test. Compound 48/80 has been used as a convenient reagent to study a mast cell-mediated non-specific anaphylactic reaction. The NHE treated group has significantly lower Evans blue dye concentration than the control group. These results suggest that the NHE may be useful for the prevention and treatment of allergy-related disease.

Key words : Passive cutaneous anaphylaxis, Natural herbal extracts, Allergy, Gamma-irradiation, Compound 48/80

서 론

알레르기는 항원 항체 반응의 결과로 일어나는 생체의 병적 과정으로 면역기전에 따라 I-V형으로 나뉘어서 알려져 있다(Lee *et al*. 2000). I형은 즉시형 과민반응으로 알레르기 반응의 대부분을 차지하고 있으며 비만세포로부터 방출되는 화학적 매개물질에 의하여 유발된다. 비만세포의 탈과립에 의해 방출되는 히스타민은 아나필락시를 일으키는 강력한 매개물질로 알려져 있는데, 비만세포 표면의 막에 작용하는 자극물질 중에서도 합성 compound 48/80이 가장 잘 알려져 있다(Kim *et al*. 2000; Lee *et al*. 2000). Compound 48/80은 비만세포의 칼슘수준을 증가시켜 비만세포의 탈과립을 유도한다고 알려져 있다(Lee and Kim 1995).

어성초(*Houttaynia cordata*)는 삼백초과에 속하는 다년생 초본으로 흔히 약모밀, 삼백초라 불리어진다. 성분 중 decanoyl acetaldehyde는 폐렴, 무좀, 욕창 등에 효능이 있고, quercitrin과 iso-quercitrin은 대장균, 곰팡이, 무좀균 및 임균에 대하여 강한 항균활성이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 면역기능을 증강시키고, 항염증 작용, 이뇨작용 등에 관한 연구가 보고되고 있다(Li *et al*. 2005; Lu *et al*. 2005; Shin *et al*. 2006; Jeon and Seo 2008). 차전초(*Plantago asiatica*)는 질경이과에 속하는 다년생 초본으로 우리나라의 산야에 자생하고 있다(Yoon and Ha 2001). 효능으로는 신장염, 방관염, 요도염, 항염증천식,

* Corresponding authors: Young-Chang Nho, Tel. +82-63-570-3060, Fax. +82-63-570-3079, E-mail. ycnho@kaeri.re.kr

간염 등의 치료에 사용되었다(Samuelsen 2000; Liu *et al*. 2002; Park *et al*. 2007). 금전초(*Lysimachia christinae*)는 꿀풀과에 속하는 다년생 초본으로 관상용, 약용으로 쓰이며 어린 잎은 식용이 가능하고 발한, 해열, 황달 등에 민간요법으로 사용되었다(Kim 2004). 금전초에 관한 연구로는 갈라토사민 중독 흰쥐의 대사효소활성에 미치는 영향(Kim *et al*. 1996), streptozotocin 유발 당뇨 쥐에서의 혈당강하 효과(Kim 2004), 항염증 효과(Gu *et al*. 1988)에 관한 연구가 이루어지고 있다. 상엽(*Morus alba* Linne)은 낙엽교목인 뽕나무 *Moris alva* L.의 잎을 건조한 것으로 한방에서는 소갈증의 치료 약제로 사용되었고(Lee *et al*. 2007; Park *et al*. 2007) 소장에서 탄수화물의 소화에 관여하는 α-glucosidase 활성을 억제하여 식후 혈당 조절에 관련 있는 것으로 보고되고 있다(Miyahara *et al*. 2004). 최근 상엽에 관한 연구로는 아토피 피부염에 미치는 영향(Kim *et al*. 2004), 항염증 작용(Cho *et al*. 2005), 항산화(Kim and Jeong 2006; Lee *et al*. 2007), 카드뮴 독성에 미치는 영향(Jeung *et al*. 2003) 등 다양한 영역에 걸쳐 진행되고 있다. 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. japonica)는 느릅나무과에 속하며 한국, 일본, 중국 등지에 분포하고 있다. 건조한 수피를 유피 또는 유백피라고 하며 다량의 점액을 함유하고 있어 완하제로 쓰이며 한방에서는 치습, 이뇨, 소종독의 처방에 사용되었다(Lee *et al*. 1995; Lee *et al*. 2004). 느릅에 관한 연구로는 식중독 유발 세균의 증식에 미치는 영향(Bae *et al*. 2005), 항암작용(Lee *et al*. 2004; Lim 2007), 위궤양과 발부종에 미치는 영향(Lee *et al*. 1995) 등의 연구가 이루어지고 있다. 이처럼 상기 천연약용식물의 효능이 입증되고 있으나 각 약용식물의 혼합물에 대한 알레르기에 대한 자세한 보고는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 몇 가지 천연약용식물들로 국소적인 피부염증 반응인 PCA (passive cutaneous anaphylaxis) 테스트를 통해 비만세포에 의한 국소적인 아나필락시스 억제 정도를 측정하여 각 천연약용식물들의 항염효과를 알아보았다. 천연 약용식물로 어성초(*Houttuynia cordata* Thunb.), 차전초(*Plantago asiatica* var.), 금전초(*Lysimachia christinae*), 상엽(*Morus alba* L.), 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)를 각각 열수추출한 뒤, 혼합액의 비율에 따라 사용하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 재료

실험동물로는 체중 200～220 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 구입하여 사용하였다(오리엔트바이오, 전북 익산시). 사육환경은 온도 23±1°C, 습도 50±10%의 항온 항습 사육실에서 자유 급수하에 고형 사료로 사육하였다. Compound 48/80과 Evans Blue 시약은 Sigma사로부터 구입하였다. 흡광도 측정을 위해 UV-Spectrophotometer (Scino, Korea)를 사용하였다.

2. 재료 및 추출방법

약초들은 건조품으로 구입하여 사용하였다. 시료의 추출은 시료 50 g에 3차 증류수를 10배로 가하여 75°C의 항온수조에서 24시간 중탕가열 한 후, 상등액은 Whatman paper filter #1으로 걸러 모았다. 여과액은 멸균을 위하여 ^{60}Co 감마선(25 kGy, 5 kGy hr^{-1})으로 조사하였다. 어성초, 차전초, 금전초, 상엽, 느릅의 혼합물(NHE) 중에서 어성초, 차전초, 금전초, 상엽, 느릅을 각각 추출한 다음 3 : 3 : 3 : 0.5 : 0.5 비율의 혼합물(NHE-05), 그리고 각 추출물의 추출농도를 고려하여 혼합추출물의 부피비에 따라 질량을 계산해서 한 챔버에서 추출한 추출액(NHE-M)을 사용하여 PCA test를 실시하였다. 에탄올로 추출한 추출물의 PCA test 결과값보다 유의한 값을 보이는 3차 증류수로 추출하여 실험을 하였다.

3. Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test

천연추출혼합물의 생체 내 알레르기 반응을 알아보기 위해 PCA test를 Lee 등과 Ha 등의 방법을 변형하여 실시하였다. 7～8주령의 수컷 SD-rat를 에테르로 가볍게 마취 후 등부분을 이발기로 제모하여 하루 동안 미세상처를 회복하게 하였다. 1일 후, 에테르로 마취 후 추출혼합물 50 μl site^{-1}를 제모된 등 부분의 표피와 피하조직 사이인 진피내로 주사하고 30분 후 10 μg site^{-1} 비만세포의 탈과립제로 compound 48/80 (Sigma, Israel)을 혼합추출물과 동일한 부위에 진피내로 주사하였다. 10분 후 1 ml의 1% Evans Blue (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 음경의 정맥에 주사하고, 다시 30분 후에 치사하여 등 부분의 피부를 벗겨 억제 정도를 육안으로 판별하였다(Fig. 1).

4. 등 피부에서의 Evans-Blue 검량선

육안 판별 후 반응이 일어난 부위를 잘라 1 N KOH 1 ml을 가하고 37°C에서 24시간 뒤에 흰쥐 등 피부를 용해시켰다. 다음에 acetone과 phosphoric acid (5 : 13) 혼합용액 4 ml을 넣어 색소를 추출하였다. 색소 추출물의 흡광도는 620 nm에서 측정하여 Evans-Blue standard curve

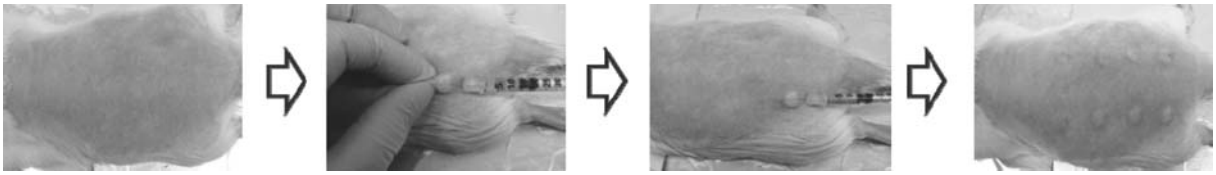


Fig. 1. Effect on PCA reactions of natural herbal extracts in rats.

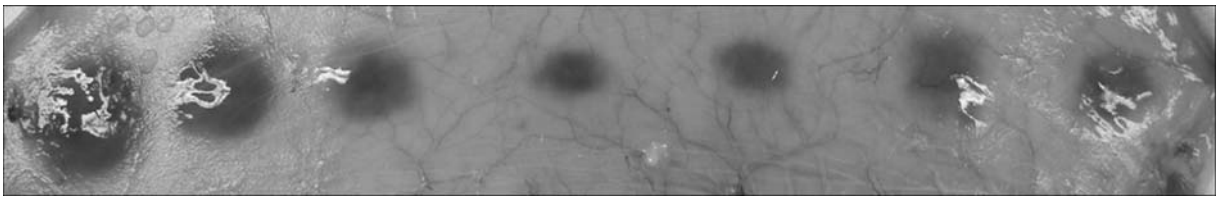


Fig. 2. Effect on PCA reactions of natural herbal extracts in rats skin.

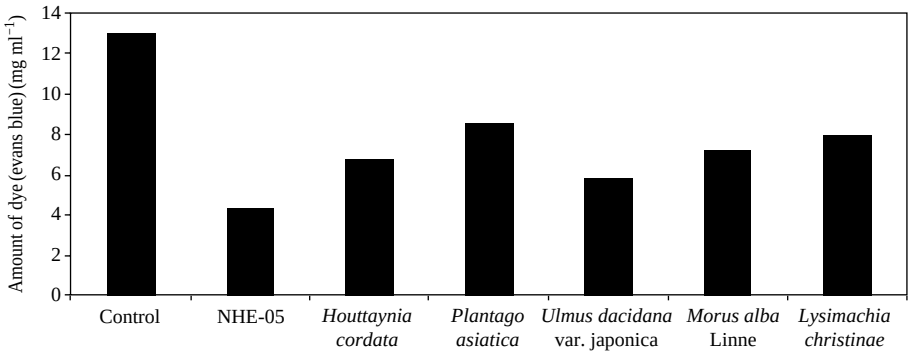


Fig. 3. Effect on PCA reaction of natural herbal extracts in rats.

로 염색의 양을 측정하였다.

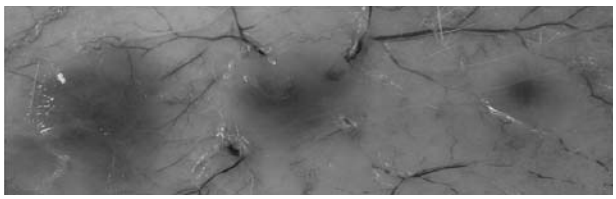
결과 및 논의

1. 천연약용식물 단일추출물의 PCA 억제 효과

천연추출물의 비만세포의 탈과립 과정을 억제시켰는지 알아보기 위해 사용된 compound 48/80은 N-methyl-p-methoxy-phenethylamin의 저분자량의 고분자로 비만세포의 세포질내로 칼슘이온의 유입을 증가시켜 비만세포의 탈과립 및 히스타민 유리를 강력하게 일으키는 것으로 알려져 비만세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 가장 많이 사용되는 약제이다(Kim *et al*. 2004). 비만세포의 탈과립 상태를 육안으로 관찰하기 위해 Evans-Blue로 염색하여 피부반응을 관찰하였다. Fig. 2는 약용식물의 단일추출물과 혼합액인 NHE-05의 compound 48/80에 의한 비만세포의 국소적인 탈과립을 보여주는 SD-rat의 피부 사진으로 증류수만을 처리한 정상군의 피부반응이 다른 추출물 처리군에 비하여 유의적으로 반점의 크기와 색이 확연한 차이를 보이고 있다. Evans-Blue의 농도를 측정한 결과 대조군에 비하여 추출물의 Evans-Blue의 농도가 유의적으로 낮았다. 단일 추출물 중에서는 느릅 추출물의 PCA 억제효과가 유의적으로 나타났고, 반점의 누출량(Amount of dye (evans blue))은 대조군(Control)에서 13.06 μg ml^{-1}, 단일추출물 중에서도 느릅이 5.81 μg ml^{-1}로 PCA 억제 효과가 나타났다. 단일추출물보다는 혼합추출물의 반점의 누출량이 4.35 μg ml^{-1}로 비만세포에서 compound 48/80에 의한 혈관투과성을 유의하게 억제하였다(Fig. 3).

Table 1. Composition of natural herbal extracts mixture

	Houttaynia cordata	*Plantago asiatica*	*Lysimachia christinae*	*Morus alba* Linne	*Ulmus dacidana* var. japonica
NHE-05	3	3	3	0.5	0.5
NHE-M	3	3	3	0.5	0.5



Control NHE-05 NHE-M

Fig. 4. Effect on PCA reactions of natural herbal extracts in rats skin.

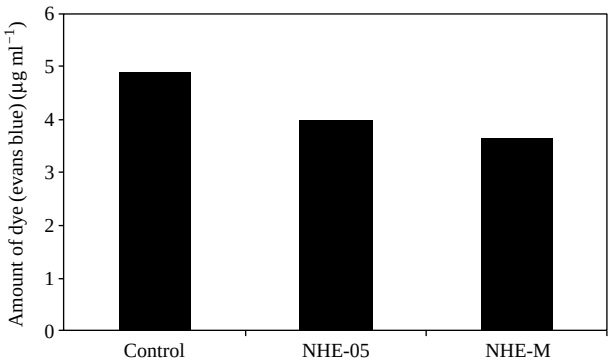


Fig. 5. Effect on PCA reaction of natural herbal extracts in rats.

2. 천연약용식물 혼합추출물에 따른 PCA 억제 효과

Table 1은 혼합추출물의 혼합비율이다. 어성초, 차전초, 금전초, 상엽, 느릅의 혼합물(NHE) 중에서 어성초, 차전초, 금전초, 상엽, 느릅을 각각 추출한 다음 3 : 3 : 3 : 0.5 : 0.5 비율의 혼합물(NHE-05), 그리고 각 추출물의 추출농도를 고려하여 혼합추출물의 부피비에 따라 질량을 계산해서 한 챔버에서 추출한 추출액(NHE-M)을 사용하였다. Fig. 4는 혼합추출물에 대한 PCA test 결과로써 혼합추출 물 처리군이 증류수만을 처리한 정상군(Control)의 비만세포에 의한 국소적인 아나필락시스를 효과적으로 억제하였다. 각 추출물의 추출농도를 고려하여 추출 혼합물의 부피비에 따라 질량을 계산해서 한 챔버에서 추출한 추출액(NHE-M)이 PCA 억제 효과가 더 좋았으며, 반점의 누출량(Amount of dye (evans blue))은 대조군 (Control)에서 4.89 μg ml^{-1}, NHE-M군이 3.65 μg ml^{-1}로 비만세포에서 compound 48/80에 의한 혈관투과성을 유의하게 억제하였다(Fig. 5).

결 론

천연약용식물 혼합추출물의 국소적인 알레르기의 변화를 평가하고자 SD-rat에서의 passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 테스트를 실시하였다. 실험 결과 천연약용식물 추출혼합물 중에서도 어성초, 차전초, 금전초, 상엽, 느릅을 각각 추출한 다음 3 : 3 : 3 : 0.5 : 0.5 비율의 혼합물(NHE-05) 처리군이 증류수만을 처리한 정상군보다 비만세포에서 compound 48/80에 의한 혈관투과성을 유의하게 억제하였다. 또한, 각 추출물의 추출농도를 고려하여 혼합추출물의 부피비에 따라 질량을 계산해서 한 챔버에서 추출한 추출액(NHE-M)이 PCA 억제 효과가 유의적으로 효과가 나타났다.

사 사

본 연구는 교육과학기술부 지원 원자력연구개발사업에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

Bae JH, Son JN and Kowk EJ. 2005. Antimicrobial effect of *Ulmus davidiana* var. japonica extracts on food-borne pathogens. *J. East. Asian Dietar. Life*. **15**:213-218.

Cho KS, Lee JY and Kim DG. 2005. Effect of *Mori folium* on the anti-inflammatory response. *J. Korean. Oriental. Pediatrics.* **19**:185-201.

Gu LZ, Zhang BS and Nan JH. 1988. Anti inflammatory effects of two species of *Lysimachia chris* Hance and *Desmodium styracifolium. Merr. Chung. Yao .Tung. Pao.* **13**:40-42.

Ha WK, Juhn SL, Kim JW, Lee SW, Lee JY and Shon DH. 1994. Antigenicity of whey protein hydrolysates against rabbit anti α-lactoglobulin antiserum. *Korean J. food Sci. Technol.* **26**:436-441.

Jeon OD and Seo HS. 2008. The effects of *Houttuyniae herba*

extract on the activity of anti-bacteria, anti-inflammation and anti-oxidation. *Yakhak Hoeji.* **11**:119-125.

Jeung JY, Song YS and Lee KN. 2003. Effects of ethyl acetate extracts of *Folium mori* on cadmium inhalation toxicity. *J. Oriental Physiology* **17**:700-710.

Kim DH, Song BK, Lee EJ and Kim HK. 2000. Inhibitory effect of mast cell-mediated anaphylactic reactions and tumor necrosis factor-α production by aqueous extract of *Sinomenium acutum* stem. *J. Korean Oriental Med.* **21**:52-59.

Kim HY, Kim SS, Lee CK and Choi JW. 1996. Biological activities of *Lysimachiae Herba*. I. Effects of the pretreatment of *Lysimachiae Herba* on the enzyme activities in galcatosamine-intoxicated rats. *Kor. J. Pharmacogn*. **27**:58-64.

Kim KH, Lee JY and Kim DG. 2004. Effects of *Mori folium* on the atopic dermatitis. *J. Kyung Hee Univ. Med. Cent.* **20**:37-45.

Kim OG and Jeong JC. 2006. Effects of the *Mori folium* extracts in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J. Orient. Int. Med*. **27**:811-821.

Kim OK. 2004. Antidiabetic effect of *Glechoma hederacea* LINNAEUS in streptozotocin induced diabetic rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**:300-308.

Lee EB, Kim OK, Jung CS and Jung KH. 1995. The influence of methanol extract of *Ulmus davidiana* var. japonica cortex on gastric erosion and ulcer and paw edema in rats. *Yakhak Hoeji.* **39**:671-675.

Lee JE, Song YK and Lim HH. 2007. Studies on the antioxidant effects of *Mori folium* extract. *J. Korean Oriental Med.* **28**: 148-158.

Lee JK, Yum JY, Kim YC and Shin TY. 2000. Inhibitory effects of medicinal plants on anaphylactic reaction. *Yakhak Hoeji.* **44**:489-493.

Lee KH, Cho CH and Yoon WH. 2004. In vivo antitumor activity of mansonome E isolated from *Ulmus davidiana* var. japonica NAKAI. *Kor. J. Pharmacogn*. **35**:199-202.

Lee SW, Ha WK, Juhn SL, Kim JW, Shon DH and Lee JY. 1994. Antigenicity of whey protein hydrolysates against rabbit anti β-lactoglobulin antiserum. *Korean J. food Sci. Technol.* **26**:532-538.

Lee YM and Kim HR. 1995. Inhibitory effect of anaphylaxis by WK101 and mechanism. *Yakhak Hoeji.* **39**:616-621.

Li GZ, Chai OH, Lee EH, Han EH, Kim HT and Song CH. 2005. Inhibitory effects of *Houttuynia cordata* water extracts on anaphylactic reaction and mast cell activation. *Biol. Pharm. Bull.* **28**:1864-1868.

Lim SY. 2007. Effect of extracts from root bark of *Ulmus parvifolia* on inhibition of growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J. Life Science.* **17**:1232-1236.

Liu X, Wu X, Huang H, Zhong S, Lai X and Cao L. 2002. Herbalodical study on *Plantago asiatica* L. *Zhong. Yao. Cai.* **25**:46-48.

Lu HM, Liang YZ, Yi LZ and Wu XJ. 2005. Anti-inflammatory effect of *Houttuynia cordata* injection. *J. Ethnopharmacol.* **104**:245-249.

Miyahara C, Miyazawa M, Satoh S, Sakai A and Mizusaki S. 2004. Inhibitory effects of mulberry leaf extract on postprandial hyperglycemia in normal rats. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **50**:161-164.

Park BG, Lee HS, Jung SH, Koo YC, Hong CO, Lee SJ and Lee KW. 2007. Single & 14-day repeated oral toxicity study and genotoxicological safety estimate of plantamajoside isolated from *Plantago asiatica*. *J. Toxicol. Pub. Health.* **23**:79-86.

Park KJ, Han EJ, Choi YS, Han GC, Park JS and Chung SH. 2007. Antidiabetic effect of herbal formula containing *Mori folium, Euonymi lignum* suberalatum and Ginseng radix in db/db mice. *Kor. J. Pharmacogn.* **38**:10-14.

Samuelsen AB. 2000. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. *J. Ethnopharmacol.* **71**:1-21.

Shin ES, Suh DS, Ding JL and Cha WS. 2006. Chemical characterization and antibacterial effect of volatile flavor concentrate from *Houttyunia cordata* thumb. *J. Life Scence.* **16**:297-301.

Yoon SH and Ha H. 2001. Hepatoprotective and hypolipidemic activity of *Plantaginis Herbs* extracts in diabetic model. *Kor. J. Environ. Toxicol.* **16**:127-131.

Manuscript Received: December 7, 2009
Revision Accepted: December 15, 2009