

원 개

## 黃耆藥鍼液의 NO, DPPH 消去 및 IL-4 抑制效果

이경민 · 서정철 · 한상원

경산대학교 한의과대학 침구경혈학교실

### Abstract

#### Scavenging Effect on NO, DPPH and Inhibitory Effect on IL-4 in Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution

Lee Kyung-min, Seo Jung-chul and Han Sang-won

Department of Acupuncture & Moxibustion,  
College of Oriental Medicine, Kyung-San University

**Objective** : This study was designed to find out whether Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution(ARHA) can scavenge NO, DPPH and IL-4 or not. Astragali Radix has been clinically used to reforce the depression of immune response etc. in Oriental Medicine.

**Methods** : Free radical metabolism seems to occupy a remarkably common position in the mechanisms of ageing and ageing related disease. Oxidative damage to DNA, lipids, proteins and other molecules may contribute to the development of cancer, cardiovascular disease and possibly neurodegenerative disease. The effects of ARHA on NO, DPPH and IL-4 were measured.

**Results** : The followings are the summary of the results;

- ① There is a significant scavenging effect of ARHA on NO in 1, 10mg/ml group in after 24hrs.
- ② There is no significant scavenging effect of ARHA on DPPH.
- ③ There is a significant scavenging effect of ARHA on IL-4 in 1, 10,100µg/ml group.

**Conclusions** : These results suggest that ARHA has significant scavenging effect on NO, IL-4 and not on

· 접수 : 2003년 3월 13일 · 수정 : 2003년 3월 20일 · 채택 : 2003년 3월 22일  
· 교신저자 : 한상원, 대구광역시 수성구 상동 165번지 경산대학교 부속 대구한방병원 침구과(706-060)  
Tel. 053-770-2236 Fax. 053-764-0566 E-mail : chimguhan@hanmail.net

DPPH. This study shows that ARHA can be used for ageing related disease and further studies are required to investigate the antioxidative effects of it.

**Key words:** Astragali Radix, Herbal-Acupuncture, NO, DPPH, IL-4

## I. 緒 論

인류의 수명이 연장되고 노령화 사회로 발전됨에 따라 성인병과老化에 대한 현대인들의 관심이 증가되고 있다. 동양의학에서는 성인병이나老化의 과정이 體內的 氣質的 不足이나 機能的 偏向狀態, 즉 陰陽失調, 臟腑虛衰 및 精氣神虧耗說로 구분되어 연구되고 있으며 서양의학에서는 DNA설, 내분비설, 화학反應설, 免疫설 등이 있으나 1956년 Harman<sup>1)</sup>이 free radical이론을 제기한 이후 free radical에 의해서 유도되는 지질의 과산화 反應이 人體의 疾病, 老化現象과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다<sup>2)-3)</sup>.

산소는 생명유지에 절대적으로 필요한 원소이지만 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학반응 등의 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인 등에 의하여 반응성 활성산소(reactive oxygen, 예컨대  $O_2^-$ , HO.,  $H_2O_2$ ,  $O_2$ , Nitric Oxide(NO) 등)로 전환되면 生體에 치명적인 毒性을 일으키는 양면성을 지니고 있다. 이들 활성산소는 細胞구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 非選擇的, 非可逆的인 파괴작용을 함으로써 老化는 물론 암을 비롯하여 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 호흡기질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 疾病을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>4)-5)</sup>. 또한 이들 활성산소에 의한 지질 과산화 결과 생성되는 脂質過酸化물을 비롯하여 여

러가지 체내 過酸化물도細胞에 대한 酸化的 破壞로 인한 각종 機能障礙를 惹起함으로써 老化와 疾病의 原因이 되기도 한다<sup>5)-6)</sup>.

黃耆(Astragali Radix)는 豆科(Leguminosae)에 속한 다년생 초본인 黃耆(*Astragali membranaceus* BUNGE)의 뿌리를 봄과 가을에 채취하여 건조한 것으로, 性味가 微溫, 無毒, 甘하며 脾, 肺經으로 歸經하여 效能은 補氣昇陽, 固表止汗, 托毒排膿, 利水退腫한다고 하였다<sup>7)-8)</sup>. 黃耆에 관한 研究로는 黃耆의 細胞性 및 體液性 免疫 增強效果<sup>9)</sup>, 活性化된 탐식細胞의 增加<sup>10)</sup>, 肝과 脾臟에서의 alkaline RNase 活性減少<sup>11)</sup> 등의 生體免疫에 미치는 影響이 報告되었다. 그러나 아직까지 黃耆藥鍼의 抗酸化效果 및 Interleukin-4(IL-4)에 대한 報告는 미흡한 상태이다.

이에 저자는 黃耆藥鍼液의 抗酸化效能, 免疫反應에 미치는 效果를 알아보기 위하여 NO, DPPH 및 IL-4 測定을 한 결과, 有意한 바가 있어 다음과 같이 報告하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

본 實驗에서 사용한 黃耆는 慶山大學校 附屬 大邱 韓方病院 藥劑科에서 구입하여 嚴選한 것을 사용하였으며 試料의 生藥名과 學名은 다음과 같다<Table 1>.

Table 1. The Botanical Name of WHANG-GI (黃耆)

藥物名	生藥名	學名
黃耆	Astragali Radix	<i>Astragali membranaceus</i> BUNGE

2. 方法

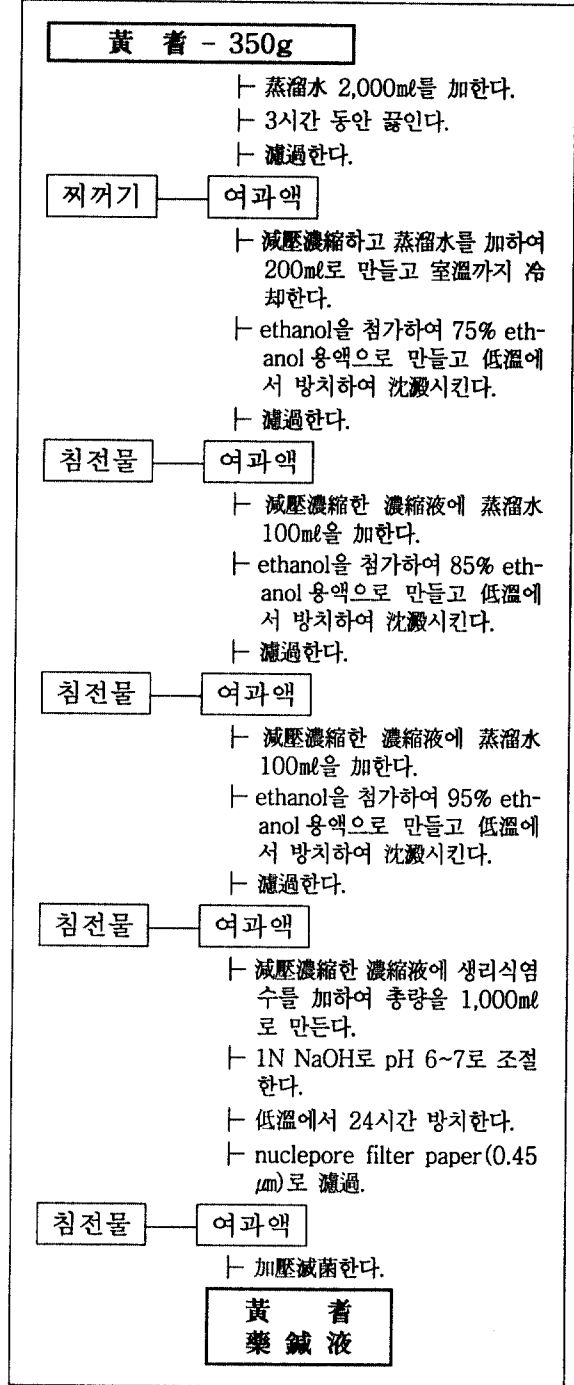
1) 黃耆藥液의 製造

實驗에 사용한 黃耆藥液은 黃耆 350g을 取해 粗末하여 圓底 flask에 넣고, 蒸溜水 2000ml를 加한 後, 3時間 煎湯하여 抽出하고 濾過하였다. 濾液은 rotary evaporator로 減壓濃縮하고 濃縮液에 蒸溜水를 加하여 全量을 200ml이 되도록 한 다음, 室溫까지 冷却하고 ethanol을 加하여 75% ethanol 溶液으로 되게 한 다음, 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다.

濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100 ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 85% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 95% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低溫에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 生成된 濃縮液에 生理食鹽水를 加하고 3% Na OH로 pH 6~7로 調節하여 全量이 1,000ml가 되게 한 다음, 低溫에서 24時間 放置한 後 nuclepore filter (0.45µm, 직경 25mm, U. S.A.)로 濾過하고 加壓滅菌하여 試料의 원액으로 使用하였다. 이상의 과정을 도식화 하면 <Table 2> 와 같다.

2) NO 消去 效果 測定

Table 2. Preparation of Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution



## ① NO 生成化合物

NO generator로는 *S*-nitroso-*N*-acetylpenicillamine (SNAP)를 사용하였다. 먼저  $\text{NaNO}_2$  1.63g을 20ml에 녹였다. 20ml의 메탄올과 20ml의 염산을 섞어 1.91g의 *N*-acetylpenicillamine를 녹였다. 후드 안에서  $\text{NaNO}_2$  용액을 *N*-acetylpenicillamine 용액에 2~3ml씩 첨가하면서 dull green이 나타나는지를 확인하면서 천천히 反應시켰다. 反應이 다 끝나면 여과를 하여 여과지에 2~3일 동안 호일을 덮어 공기 중에 말렸다. 여과지에 남아있는 분말을 수거하여 다음 實驗에 사용하였다.

## ② NO 測定

Phosphate-buffered saline (PBS) 1ml 에 SNAP 500  $\mu\text{M}$ 를 첨가한 후 黃耆藥鉞液을 농도별로 첨가한 후  $\text{CO}_2$  인큐베이터 37 $^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 95%  $\text{O}_2$  조건하에서 24시간 동안 인큐베이션 하였다. 각 조건별로 100 $\mu\text{l}$ 씩 3개씩 96-well plate를 사용하여 분주한 후 100 $\mu\text{l}$ 의 Griess 용액을 첨가하여 550nm 파장에서 吸光度를 測定하였다<sup>12)</sup>. 이때  $\text{NaNO}_2$  용액을 표준으로 하여 농도를 계산하였다.

## 3) DPPH 消去 效果 測定

黃耆藥鉞液과 대조약물군으로는 대표적인 抗酸化物質인 Vit. C를 선택하여 3차 蒸溜水에 100mM로 녹여 보관하였다. DPPH 용액은 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 무수 에탄올에 녹여 540nm에서 吸光度가 0.96~0.97이 되는 농도로 희석하였다. 黃耆藥鉞液과 Vit. C를 에탄올에 10mM과 100 $\mu\text{M}$ 로 희석하였다. 反應은 96 well plate에 에탄올 40 $\mu\text{l}$ , 시약 10 $\mu\text{l}$ 를 넣은 후 위에 조성한 DPPH 용액을 50 $\mu\text{l}$ 를 넣어 100 $\mu\text{l}$ 로 만들어(최종 농도가 1mg/ml, 0.1mg/ml가 되도록 함) vortex로 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 1시간 방치한 후, ELIZA reader를 이용하여 540nm 파장에서 吸光度를 測定하였다<sup>13)</sup>.

## 4) IL-4 抑制 效果 測定

생쥐(BALB/c)의 spleen을 적출하여 RPMI 1,640 media를 첨가하고 무균상태에서 균질화하고 65 $\mu\text{m}$  mesh로 걸른 후에 1,200rpm에서 4 $^\circ\text{C}$ 로 5분간 원심분리하였다. 상층액을 제거하고 細胞 pellet에 멸균된 삼차중류수를 900 $\mu\text{l}$ 를 가한 후 10x PBS를 넣어 RBC를 용혈시키고 다시 1,200 rpm에서 4 $^\circ\text{C}$ 로 5분간 원심분리하였다. 65 $\mu\text{m}$  mesh로 죽은 細胞들을 여과한 후 hemocytometer를 이용하여 細胞수를 測定하였다. 24well plate의 well 당  $1.5 \times 10^6$ 개의 細胞를 2ml의 RPMI 1,640 media에 분주하였으며 IL-4를 자극하기 위하여 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 Concavalin A를 처치하였다. 동시에 黃耆藥鉞液을 최종농도가 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 농도별로 처리하였다. 배양 48시간 후에 상층액만을 취하여 다음 IL-4의 농도를 測定할 때까지 -70 $^\circ\text{C}$ 에 보관하였다. ELISA plate에 capture antibody를 100 $\mu\text{l}/\text{well}$ 을 가하고 실온에서 하룻밤 코팅하였다. Wash buffer(0.05% Tween 20 in PBS, pH 7.4)로 3번 세척하고 깨끗이 제거하였다. 비특이 反應을 消去하기 위하여 1% BSA를 포함하는 PBS를 300 $\mu\text{l}$  가하고 실온에서 적어도 1시간 이상 反應시켰다. 다시 Wash buffer로 3번 세척하고 깨끗이 말린 후, plate를 사용할 때까지 4~8 $^\circ\text{C}$ 에 보관하였다. Sample과 standard 용액을 96 well plate에 100 $\mu\text{l}$  가하고 가볍게 섞은 후 실온에서 2시간 동안 反應 시켰다. Wash buffer(0.05% Tween 20 in PBS, pH 7.4)로 3번 세척하고 깨끗이 제거하였다. Biotinylated detection antibody를 100 $\mu\text{l}$  가하고 실온에서 2시간 동안 反應시켰다. Wash buffer(0.05% Tween 20 in PBS, pH 7.4)로 3번 세척하고 깨끗이 제거하였다. Streptavidin HRP(R & D Systems)를 100 $\mu\text{l}$  첨가하고 室溫에서 30분간 反應시켰다. Wash buffer(0.05% Tween 20 in PBS, pH 7.4)로 3번 세척하고 깨끗이 제거하

였다. Substrate solution[1 : 1 mixture of Color Reagent A(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and Color Reagent B(tetame-thylbenzidine) (R & D Systems)]을 50 $\mu$ l 가하고 잘 섞은 후 30분 이내에 microplate reader를 이 용하여 450nm에서 吸光度 測定하였다.

### 5) 통계처리

통계분석은 Statistical Package for Social Science software SAS(version 6.1.2)를 사용하였으며 데이터 분석은 Student's t-test를 이용하였고 통계적인 有意性은 P<0.05로 하였다. 모든 實驗은 독립적으로 3번 이상 반복하였고 mean $\pm$ standard errors(SEM)로 나타내었다.

## III. 結 果

### 1. NO 消去 效果

黃耆藥鍼液에 대하여 NO 消去 效果를 測定한 結果 1시간 경과 후 NO 농도는 無處置群이 17.3 $\pm$ 1.7%, Vit. C 處置群은 7.4 $\pm$ 0.1%, 黃耆藥鍼液 0.1, 1, 10mg/ml에서 각각 14.1 $\pm$ 0.1, 11.5 $\pm$ 1.0, 9.4 $\pm$ 1.0%로 나타났다.

3시간 경과 후 無處置群이 27.9 $\pm$ 2.7%, Vit. C 處置群은 16.8 $\pm$ 0.2%, 黃耆藥鍼液 0.1, 1, 10mg/ml에서 각각 23.0 $\pm$ 1.6, 18.4 $\pm$ 1.8, 15.4 $\pm$ 2.6%로 나타났다.

6시간 경과 후 無處置群이 50.5 $\pm$ 4.2%, Vit. C 處置群은 21.6 $\pm$ 3.2%, 黃耆藥鍼液 0.1, 1, 10mg/ml에서 각각 45.2 $\pm$ 5.8, 39.2 $\pm$ 2.4, 27.2 $\pm$ 2.3%로 나타났다.

24시간 경과 후 無處置群이 100.0 $\pm$ 7.6%, Vit. C 處置群은 9.6 $\pm$ 4.8%, 黃耆藥鍼液 0.1, 1, 10mg/ml에서 각각 86.9 $\pm$ 6.2, 81.9 $\pm$ 8.6, 64.8 $\pm$ 3.3%로 나타났다.

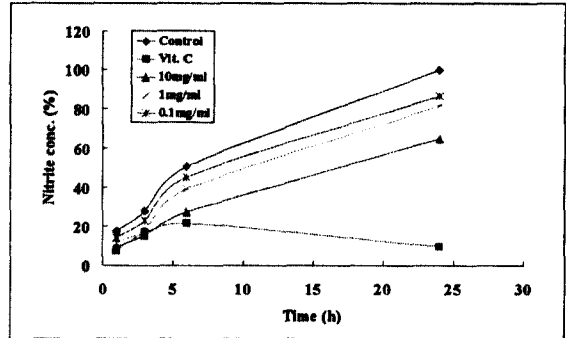


Fig. 1. Inhibitory Effect of Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution on NO

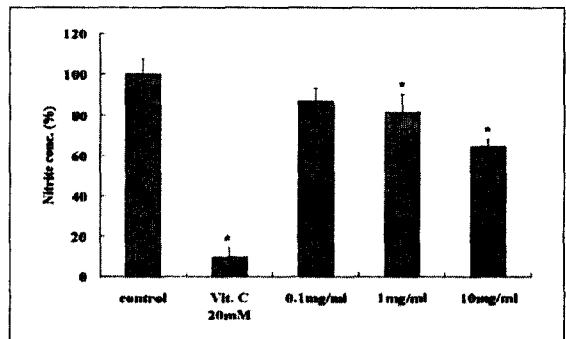


Fig. 2. Inhibitory Effect of Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution on NO after 24 Hours

\*; significantly different from control group(P<0.05)

24시간 경과 후 1, 10mg/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意性(P<0.05)있는 NO 消去 效果가 있었다<Fig. 1, Fig. 2>.

### 2. DPPH 消去 效果

黃耆藥鍼液에 대하여 抗酸化 活性 效果를 확인하고자 10, 1과 0.1mg/ml의 농도로 1시간 동안 DPPH 消去 效果를 測定하였다.

無處置群의 경우 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 消去 效果는 각각 0.00 $\pm$ 6.0, 0.7 $\pm$ 6.1, 1.4 $\pm$ 6.1, 2.4 $\pm$

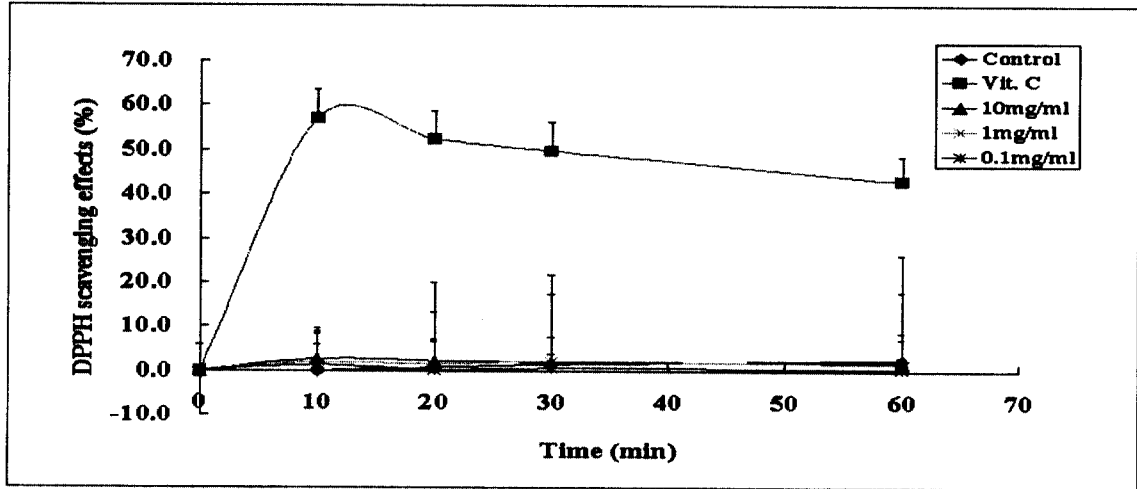


Fig. 3. Scavenging Effect of Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution on DPPH radical

6.2%로 항산화 활성이 거의 없었으나 강력한 항산화제인 Vit. C에서는 시간이 지남에 따라 항산화 활성이 높게 유지되었다(10, 20, 30, 60분 후 DPPH 소거 효과는 각각 56.9±6.4, 52.4±6.2, 49.7±6.6, 42.8±5.7%).

한편 10mg/ml의 황耆藥鍼液을 투여한 군에서는 항산화 활성이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 소거 효과는 각각 2.6±6.9, 2.2±17.9, 1.9±19.8, 1.7±24.6%로 나타났고, 1mg/ml의 황耆藥鍼液을 투여한 군에서는 항산화 활성이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 소거 효과는 1.9±6.5, 1.5±11.7, 2.1±15.3, 1.5±16.1%로 나타났고, 0.1mg/ml의 황耆藥鍼液을 투여한 군에서는 항산화 활성이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 소거 효과는 각각 1.3±7.5, 0.2±7.0, 0.5±3.2, 0.5±6.7%로 나타났다. 한편 황耆藥鍼液에 대하여 有意性(P<0.05) 있는 DPPH 소거 효과는 보이지 않았다(Fig. 3).

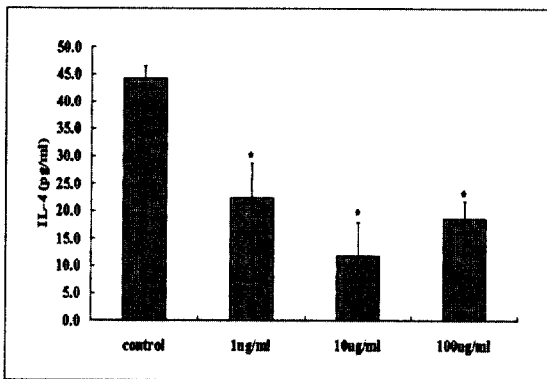


Fig. 4. Inhibitory Effect of Astragali Radix Herbal-Acupuncture Solution on IL-4

\* : significantly different from control group(P<0.05)

### 3. IL-4 抑制 效果

黃耆藥鍼液에 대하여 IL-4 抑制 效果는 對照群의 경우 44.2±2.3pg/ml이었으나 1, 10, 100μg/ml의 黃耆藥鍼液에서 IL-4는 각각 22.3±6.4, 11.8±6.1, 18.6±3.1pg/ml로 나타났으며 모두 有意性(P < 0.05) 있는 IL-4 抑制 效果가 나타났다(Fig. 4).

## IV. 考 察

의학의 발달로 인하여 우리나라의 노인 인구도 점차 늘어나 1985년에는 전체 인구의 4.1%, 1990년에는 4.7%, 2000년에는 6%이며, 2005년에는 7%에 도달하여 고령화 사회로 진입하게 될 것으로 전망된다<sup>14)</sup>. 이로 인해 파생된 많은 성인병과 老化관련 문제들은 개인의 문제만이 아닌 사회적인 문제로 부각되고 있으며 이에 대한 研究가 많이 이루어지고 있으나 아직까지 명확하게 밝혀진 사실은 없고 여러 가지 가설이 제시되고 있다<sup>4)</sup>.

이중 1956년 Harman<sup>1)</sup>에 의해 제안된 free radical 이론은 free radical의 인체의 내적 환경 변화를 일으키는 것이 老化의 촉진과 밀접한 관계가 있다는 점에서 최근 주목받고 있는 이론으로 이후 free radical에 의해서 유도되는 脂質의 過酸化 反應이 人體의 疾病, 老化現象과 밀접한 관계가 있는 것으로 報告되고 있다<sup>5)-6)</sup>.

Free radical은 적어도 한쌍의 짝을 짓지 않은 전자들을 포함하는 것이며, 전자 및 분자는 基本的으로 어떤 物質과 전자를 공유하여 安定化되려고 한다. 이러한 결합은 恒久的이지 못하며 외부의 힘에 의하여 서로 분리되어 생체내에 수많은 free radical을 생성하게 한다<sup>5)</sup>. 이들 free radical은 細胞 구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 非選擇的, 非可逆的인 파괴작용을 함으로써 老化는 물론 癌을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨병 등의 뇌질환과 심장질환, 허혈, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자기면역질환 등의 각종 疾病을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>4)-5)</sup>.

최근에 이르러 특히 抗酸化劑를 통하여 이러한 병을 치료하려는 시도가 이루어지면서 抗酸化劑의 연구개발은 식품, 의약품 분야, 농업 분야 등 다방면 분

야에서 이용되고 있어 抗酸化劑 시장규모를 보면 식품분야에서만도 연간 10억불 이상의 세계시장을 확보하고 있기 때문에 국가적 측면에서 매우 큰 경제적, 산업적 파급 효과를 기대할 수 있다<sup>13),15)</sup>. 그러나 지금까지 연구되고 알려진 抗酸化劑가 약한 活性과 毒性 및 사용상의 한계로 의약품으로 사용하는 데 있어서 많은 문제점을 내포하고 있다. 따라서 고부가가치 창출을 위해서는 經濟的이며 實用的인 實驗的인 方法이 필요하다.

면역계 세포가 細胞內 寄生體에 대한 방어 능력이 충분히 갖추어지기 위해서는 림프구, 특히 T細胞에서 유래한 細胞 活性 物質의 影響을 받아 活性化되어야 가능하다. 일반적으로 大食細胞는 T細胞의 影響을 받아 NO가 생성된다. NO는 혈압조절에서 항생 작용, 신경계의 정보와 기억에까지 넓은 범위에서 活性이 나타나는 生物學的 信號이다<sup>16)-17)</sup>. 그러나 과량의 NO는 조직을 손상시키고 염증을 유발한다. 따라서 NO의 생성은 조절될 필요성이 있다. 과학자들은 神經傳達物質의 역할을 하는 활성산소의 하나인 NO의 消去劑가 고혈압, 패혈증성 쇼크(septic shock), 뇌졸중, 암, 성교 불능과 같은 병들을 치료하는데 유용할 것으로 생각하고 있다.

본 實驗에서는 NO generator로는 SNAP를 사용하였다. 기존에 NO에 관한 논문은 김 등<sup>16)</sup>의 인체 僞上皮細胞에서의 NO 생성을 비롯하여 매우 많다. 그러나 SNAP을 이용하여 NO 消去效果를 본 논문으로는 양방에서는 박 등<sup>17)</sup>이 NO를 주사시 망막에 미치는 影響, 김 등<sup>18)</sup>이 안구표피질환에서 NO의 역할 등을 報告하였고, 한방에서는 한 등<sup>19)</sup>이 數種 藥鍼液의 NO 消去 效果, 서 등<sup>20)</sup>이 蜂藥鍼液의 NO 消去 效果를 報告 하였다.

DPPH는 활성산소의 하나로서 일반적으로 反應性이 강한 DPPH radical은 抗酸化제로부터 전자 혹은 수소원자를 얻음으로써 안정한 형태의 生成物로 轉換하는 것으로 알려져 있다<sup>13),21)-22)</sup>. 기존에 DPPH

消去 效能에 관한 研究로는 朴 등<sup>23)</sup>이 大柴胡湯에 대하여, 이 등<sup>21)</sup>이 紅蓼에 대하여, 최 등<sup>22)</sup>이 桂枝에 대하여 報告한 바가 있다.

Interleukin-4(IL-4)는 cytokine의 하나로 분자량은 20kDa이고 CD4 양성 T임파구와 活性化된 mast cell에서 분비되며, 주로 B림프구의 增殖 및 分化因子로 작용, B림프구에서 MHC(major histocompatibility complex, 주조직 적합성 복합체) class II 항원의 발현증진, mast cell의 增殖因子 및 B림프구와 大食細胞에서 CD23(IgE의 Fc에 대한 수용체)의 發顯을 誘導하는 작용을 한다<sup>24)</sup>. 즉, IL-4는 IgE 및 mast cell, eosinophil 媒介性 免疫의 調節子이며<sup>25)</sup>, 휴지기 상태의 B림프구에서 항원의 발현을 增進시키고, 나아가 即時型 過敏反應의 媒介物인 IgE의 生成을 促進시키는 機能을 한다<sup>24),26)</sup>. 한편 IL-4는 알레르기 질환에 있어서 喘息의 發病에 관여하는 중요한 cytokine으로서 휴지기 상태의 B細胞에서 Ia 항원을 발현시키고 IgE 생산을 增加시킴으로써 喘息의 誘發 및 아토피의 發生에 중요한 역할을 한다<sup>26)</sup>.

이에 著者は 黃耆藥鍼液을 이용하여 free radical 消去法에 의한 抗酸化 活性 檢索方法을 통하여 직접 實驗管内에서 일차적으로 細胞保護劑로서 역할을 할 수 있는 기능을 확인하고자 하였다.

黃耆는 콩과에 속한 黃耆의 地下莖으로 性味는 溫甘하여 補益元氣, 益衛固表, 利水消腫, 托毒生肌, 補中益氣의 效能이 있다. 《方藥合編》<sup>27)</sup>에서는 “黃耆 甘溫收汗表 托瘡生肌虛莫少”이라 하였고, 《醫學入門》<sup>28)</sup>에서는 “甘溫性無毒, 內托癰疽外”이라 하였다. 黃耆에 대한 實驗的 研究로는 朴 등<sup>29)</sup>, 裴 등<sup>30)</sup>이 黃耆의 免疫增強效果에 대해 報告한 바 있으며 黃耆의 細胞性 및 體液性 免疫 增強效果<sup>9)</sup>, 活性化된 貪食細胞의 增加<sup>10)</sup>, 肝과 脾臟에서의 alkaline RNase 活性減少<sup>11)</sup> 등의 生體免疫에 미치는 影響이 報告되었다. 그러나 아직까지 黃耆藥鍼의 抗酸化效果 및

IL-4에 대한 報告는 전혀 없는 상태이다. 이에 黃耆藥鍼의 作用기전을 보다 깊이 이해하고 기초자료로 쓰일 수 있도록 NO, DPPH 및 IL-4 消去 效能을 관찰한 結果는 다음과 같다.

黃耆藥鍼液에 대하여 抗酸化 效果 중 대표적 酸化劑인 NO의 消去 效果를 확인하고자 0.1, 1, 10mg/ml의 濃도로 測定하였다. 본 實驗 結果 24시간 경과 후 NO 濃도는 無處置群이 100.0±7.6%, Vit. C 處置群은 9.6±4.8%, 黃耆藥鍼液 0.1, 1, 10mg/ml에서 각각 86.9±6.2, 81.9±8.6, 64.8±3.3%로 나타났다. NO 消去 效果는 오랜 시간 NO를 처치한 후 그 結果를 보는 것이 더 의미가 있다. 따라서 24시간 경과 후를 보았을 때 黃耆藥鍼液은 1, 10mg/ml 處置群에서 無處置群에 비하여 有意한 NO 消去 效果가 있었다. 따라서 抗酸化劑의 개발에 黃耆藥鍼液이 응용될 수 있을 것으로 思料된다.

黃耆藥鍼液에 대하여 抗酸化 活性效果를 확인하고자 10, 1과 0.1mg/ml의 濃도로 1시간 동안 DPPH 消去 效果를 測定하였다. 본 實驗 結果 10mg/ml의 黃耆藥鍼液을 투여한 群에서는 抗酸化 活性이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 消去 效果는 각각 2.6±6.9, 2.2±17.9, 1.9±19.8, 1.7±24.6%로 나타났고, 1mg/ml의 黃耆藥鍼液을 투여한 群에서는 抗酸化 活性이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 消去 效果는 1.9±6.5, 1.5±11.7, 2.1±15.3, 1.5±16.1%로 나타났고, 0.1mg/ml의 黃耆藥鍼液을 투여한 群에서는 抗酸化 活性이 10, 20, 30, 60분 후 DPPH 消去 效果는 각각 1.3±7.5, 0.2±7.0, 0.5±3.2, 0.5±6.7%로 나타났다. 그러나 黃耆藥鍼液에 대하여 有意한 DPPH 消去 效果는 보이지 않았다. 黃耆藥鍼液의 抗酸化 效果를 보기 위한 본 實驗 중 DPPH 消去에서는 效果가 有意性 있게 나타나지 않았는데 이는 아마도 黃耆藥鍼液의 약리작용이 DPPH 消去보다는 다른 기전을 통해 이루어진다고 思料된다.

黃耆藥鍼液에 대하여 IL-4 抑制 效果를 확인하



고자 黃耆藥鍼液을 최종농도가 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 농도별로 처리하고 배양 48시간 후에 상층 액만을 취하여 IL-4의 농도를 測定하였다. 對照群의 경우  $44.2 \pm 2.3 \text{pg}/\text{ml}$ 이었으나 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 黃耆藥鍼液에서 IL-4는 각각  $22.3 \pm 6.4$ ,  $11.8 \pm 6.1$ ,  $18.6 \pm 3.1 \text{pg}/\text{ml}$ 로 나타났으며 1, 10과 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  投與群에서 모두 有意性이 나타났다.

이상의 結果를 살펴보면 黃耆藥鍼液은 IL-4를 有意하게 抑制하였는데 따라서 黃耆藥鍼液을 이용하여 體內 免疫 調節劑를 개발할 수 있을 것으로 思料된다.

IL-4에 대한 기존 연구로는 少陰人 升陽益氣湯을 투여하여 免疫細胞인 胸腺細胞, 脾臟細胞 및 大食細胞에 대한 작용을 관찰한 結果 胸腺細胞와 脾臟細胞에서 IL-4의 양은 변화하지 않았고, 血清 중 IL-4의 양도 변화하지 않았다<sup>31)</sup>. 그리고 RBL (rat basophilic leukemia)-2H3 細胞주를 이용한 實驗에서는 麥門冬 投與群에서는 IL-4의 轉寫에 있어 對照群에 비하여 發顯도가 53.2%의 轉寫抑制效果를 나타내었고 五味子 投與群에서는 49.1%의 轉寫抑制效果<sup>32)</sup>, 杏仁 投與群에서는 51.6%의 轉寫抑制效果<sup>33)</sup>, 桔梗 投與群에서는 54.6%의 轉寫抑制效果<sup>33)</sup>를 나타내어 본 實驗의 結果와 相通한다고 하겠다. 반면에 腎俞穴 일반침을 자극하였을 때 IL-4 遺傳子는 30분 후에 약간 發顯되었고, 黃耆藥鍼 자극 시에는 反應초기에는 나타나지 않았으나 藥鍼 처치 후 15분에서는 대량으로 發顯되었고, 30분 이후부터 3시간까지 점차로 減少하였다<sup>34)</sup>고 하였는데 본 實驗의 結果와 相反되었다.

이상의 結果에서 黃耆藥鍼液은 NO는 有意性 있게 消去하였으나, DPPH는 별다른 效果를 보이지 않았으며 IL-4 抑制 效能은 有意性 있게 나타났다.

향후 黃耆藥鍼液의 抗酸化 效果, 免疫關聯 作用 등에 대하여 심도있는 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

## V. 結 論

黃耆藥鍼液의 抗酸化效能과 免疫反應에 미치는 效果를 알아보기 위하여 NO, DPPH 및 IL-4 測定을 한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. NO 消去 效果는 1, 10 $\text{mg}/\text{ml}$  處置群에서 24시간 경과 후 有意性 있게 나타났다.
2. DPPH 消去 效果는 有意性이 인정되지 않았다.
3. IL-4 抑制 效果는 1, 10 및 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$  處置群에서 모두 有意性 있게 나타났다.

## IV. 參考文獻

1. Harman D. In the Aging-A theory based on free radical and information theory. University of California. UCRL Publication. 1955 : 3078.
2. 許士凱. 抗衰老藥物的藥理與應. 上海. 上海中醫學院出版社. 1990. 15-29.
3. Biozzi G, Stiffel C, Mouton D, Bouthillier Y, Decreusefond C. A kinetic study of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes. Immunology. 1968 ; 14(1) : 7-20.
4. Floyd RA, West M, Hensley K. Oxidative biochemical markers ; clues to understanding aging in long-lived species. Experi-

- mental Gerontology. 2001 ; 36(4-6) : 619-40.
5. 김영근, 김영균. 프리라디칼. 서울. 도서출판 여문각. 1997. 564-79.
  6. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. Crit Rev Toxicol. 1993 ; 23(1) : 21-48.
  7. 吳旻哲, 黃耆 및 當歸의 免疫 增強效果에 關한 研究. 慶熙韓醫大論文集. 1986 ; 9 : 343-54.
  8. 全國韓醫科大學本草學教室. 本草學. 1. 서울 : 永林社. 1992 : 578 -9.
  9. 장경선. 인삼과 황기가 백서의 지연성과민반응 및 항체생성능에 미치는 영향. 원광대학교 대학원 석사학위논문, 1984.
  10. Wang DY, Yang WY, Zhai SK, Shen ML. Effects of Astragalus polysaccharide of ribonucleic acid metabolism. Acta Biochem Biophys Sin. 1980 ; 12 : 343-8.
  11. Chen LJ, Shen ML, Wang MY, Zhai SK, Liu MZ. Effects of Astragalus polysaccharide of phagocytic function in mice. Acta Pharmacol Sin. 1981 ; 2 : 200-4.
  12. Fox JB, Doerr RC, Lakritz L. Interaction between sample preparation techniques and three methods of nitrite determination. J Assoc Off Anal Chem. 1982 ; 65(3) : 690-5.
  13. Ratty AK, Sunamoto J, Das NP. Interaction of flavonoids with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, liposomal membranes and soybean lipoxygenase-1. Biochem Pharmacol. 1988 ; 37(6) : 989-95.
  14. 高基完. 老化 및 老人의 病因 病機 病證에 關한 文獻的 研究. 慶熙大學校 大學院 碩士學位 論文. 1993.
  15. Kim JD et al. Development of Anti-Oxidant Tea for Anti-aging. Bull. Yosun Nat'l Univ. 1999 ; 14 : 401-9.
  16. 김정목, 김주성, 정현채, 송인성, 김정룡. Helicobacter pylori 감염에 의한 인체 위상피세포로부터의 Inducible Nitric Oxide Synthase 발현 및 Nitric Oxide 생성, 대한소화기학회지, 2002 ; 39(5) : 324-34.
  17. 박영진, 임충식, 권년수, 양한남. 有色家兎의 유리체강내에 Nitric Oxide를 주사시 망막에 미치는 영향에 대한 연구, 대한안과학회지, 1999 ; 40(11) : 3079-87.
  18. Jae Chan Kim. The role of nitric oxide in ocular surface diseases. Korean Journal of Ophthalmology. 2001 ; 15(2) : 59-66.
  19. 한상원, 임강현, 서정철, 윤현민, 장경전, 송춘호 外. Scavenging Effect of Several Distilled Herbal Acupunctures on Nitric Oxide. 東醫生理病理學會誌. 2001 ; 15(6) : 1016-21.
  20. 서정철, 임강현, 김이화, 김창주, 유영민, 정주호 外. 봉독약침액의 Nitric Oxide에 대한 소거 효과. 大韓鍼灸學會誌, 2001 ; 18(6) : 161-70.
  21. 이종원. 홍삼으로부터 분리한 수용성 갈변물질의 항산화 활성 : 1. DPPH의 수소공여능 및 hydrogen peroxide 소거능 중심으로. 高麗人蔘學會誌. 1999 ; 23(3) : 176-81.
  22. Choi, Jae Sue 外. Alaternin, Cassiaside and Rubrofusarin gentiobioside, Radical Scavenging Principles from the Seeds of Cassia tora on 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) Radical. 釜山水産大生命科學 研究報告. 1995 ; 5(1) : 321-5.
  23. 朴宣東, 尹炳局. 大柴胡湯이 alloxan으로 誘發

- 된 高血糖 白鼠에 미치는 影響. 方劑學會誌. 2001 ; 9(1) : 298-318.
24. 서울대학교 의과대학편. 면역학. 서울 : 서울대학교출판부. 1996 : 121-34.
25. 정승원, 이미애, 하대유. Cytokine이 Th1 세포의 Mitogens에 대한 증식반응에 미치는 영향. Korean J. Immunol. 1997 ; 19(1) : 73-81.
26. 韓鏞徹. 臨床呼吸器學. 서울 : 一潮閣. 1995 : 208-25.
27. 黃度淵. 方藥合編. 서울 : 榮林社. 1991 : 126-32, 145-9.
28. 李挺. 醫學入門. 서울 : 大星文化社. 1983. 470-1.
29. 朴鎭雄, 高炯均, 金昌煥. 濃度差에 따른 黃耆藥鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1994 ; 11(1) : 67-81.
30. 裴元永, 高炯均, 金昌煥. 黃耆藥鍼이 methotrexate를 投與한 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 1994 ; 11(1) : 49-66.
31. 柳昌烈, 宋正模. 少陰人 升陽益氣湯의 免疫調節作用. 四象醫學會誌. 2001 ; 13(3) : 102-13.
32. 이동생, 정희재, 이형구, 정승기. 麥門冬과 五味子が Asthma model 內의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 慶熙醫學. 2000 ; 16(2) : 170-81.
33. 정옥, 정희재, 정승기, 이형구. 杏仁과 桔梗이 Asthma model내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 大韓韓方內科學會誌. 2000 ; 21(1) : 31-8.
34. 김법진, 박수영, 김창환, 김철호, 문진영, 최달영 외. 腎俞穴의 침자극과 黃耆藥鍼이 실험용 생쥐의 免疫活性 Cytokine인 IL-4의 遺傳子發現에 미치는 영향. 大韓經絡經穴學會誌. 2001 ; 18(2) : 113-23.