

ICR 마우스를 이용한 麻黃潤肺湯의 진해, 거담, 및 항염 효과 평가

정영은, 김종대
대구한의대학교 대학원 폐계내과학교실

Antitussive, Expectorant, and Anti-inflammatory Effects of *Mahwangyounpae-tang*, a Polyherbal Formula in ICR Mice

Yeong-eun Jeong, Jong-dae Kim
Dept. of Korean Pulmonary Internal Medicine, Daegu Haany University Graduate School

ABSTRACT

Objectives: The antitussive, expectorant, and anti-inflammatory effects of *Mahwangyounpae-tang* (MHYPT) aqueous extracts were observed in appropriate animal models of various respiratory disorders.

Methods: MHYPT aqueous extracts were orally administered once a day for 11 days at dose levels of 400, 200, and 100 mg/kg. The effect of MHYPT was determined by comparing its antitussive effect with theobromine (TB), its expectorant effect with ambroxol (AM), and its anti-inflammatory effect with dexamethasone (DEXA).

Results: MHYPT aqueous extracts (400 mg/kg) showed favorable antitussive effects comparable to those of TB (50 mg/kg) in the NH₄OH-exposure coughing mouse model and expectorant effects comparable to those of AM (250 mg/kg) in the phenol red-secretion mouse model, but MHYPT (400 mg/kg) showed less anti-inflammatory activity compared to DEXA (1 mg/kg) in the xylene-induced acute inflammatory mouse ear model under the experimental conditions used.

Conclusion: MHYPT aqueous extracts administered at dosage levels of 400, 200, and 100 mg/kg induced dose-dependent and favorable antitussive, expectorant, and anti-inflammatory activities that occurred by simultaneous modulation of the activity of mast cells and respiratory mucous production under the experimental conditions used in this study.

Key words: *Mahwangyounpae-tang*, cough

1. 서론

호흡기 질환의 흔한 증상으로는 기침, 객담 등이 있다. 기침은 흔히 나타나는 호흡기 증상이지만, 만성적인 기침은 환자의 삶의 질에 영향을 미칠

정도의 고통을 준다¹. Irwin 등²에 의하면 미주신경 기침 반사 회로에 영향을 주는 흔한 질환은 천식, 상기도 및 하기도 염증, 후비루 등으로 호흡기의 염증, 객담의 비정상적인 분비와 관련이 있다. 객담은 적절하게 분비될 경우 기도를 방어하는 역할을 하지만, 과도하게 분비되면 기관지 내 이물감, 기관지 폐쇄, 이로 인한 호흡 곤란 등이 나타날 수 있다³. 따라서 호흡기 질환의 증상을 호전시키기 위해서는 기관지 염증을 치료하면서 비정상적인 객담 배출에서 회복시키고 기관지 과민성을 완화하여 기침을 억제시키는 것이 필요하다.

· 투고일: 2022.03.29, 심사일: 2022.09.29, 게재확정일: 2022.09.30
· 교신저자: 김종대 대구광역시 수성구 신천동로 136
대구한의대학교 대학원 폐계내과학교실
TEL: 053-770-2122 FAX: 053-770-2189
E-mail: omendoim@naver.com
· 이 논문은 2019년도 대구한의대학교 대학원 한의학 박사학위 논문임.

진해, 거담 및 항염 효과를 나타내는 코데인(Codeine, CD), 테오브로민(Theobromine, TB) 및 암브록솔(Ambroxol, AM)과 같은 약물들은 다양한 호흡기 장애, 기관지 천식, 기침 및 다양한 호흡기 염증성 질환에 효과적으로 사용되고 있으나 그 부작용을 무시할 수 없다. 테오브로민은 미주신경 활성을 억제하여 코데인보다 우수한 진해 효과가 있으나⁴, 다량 사용 시 중독 증상을 나타낼 수 있으며, 특히 노인에게서 빈번하다⁵. 암브록솔은 점액의 분비를 촉진시켜 가래를 묽게 하여 배출을 용이하게 해주나⁶, 위궤양 환자와 임신 3개월 이내의 임산부에게는 투약이 용이하지 않다⁷. 또한 덱사메타손(Dexamethasone, DEXA)은 여러 알레르기 및 염증성 질환 개선에 효과가 좋지만, 태아의 면역결핍을 포함한 심각한 부작용이 보고된 바 있다⁸. 이로 인해 부작용이 적은 대체할 호흡기 질환 치료제가 필요한 상황이다.

마황윤폐탕(麻黃潤肺湯: *Mahwangyounpae-tang*, MHYPT)은 천식을 포함한 다양한 호흡기 질환 치료 및 예방 효과가 실험적으로 증명되어져 왔다. 마황윤폐탕 추출물은 오브알부민으로 천식이 유발된 마우스에서 염증세포 침윤 억제, 기관폐포세정액(BALF) 내에서 염증세포의 감소, 점액세포의 분비량 감소가 보고된 바 있으며⁹, *Klebsiella pneumoniae* 및 *Pseudomonas aeruginosae*에 대해 ciprofloxacin의 항균력을 증가시키고, 폐내 염증세포의 침윤을 현저하게 감소시켰으며¹⁰ 호흡기 감염으로부터 저항성을 높여주는 효과도 확인되었다¹¹. 따라서 마황윤폐탕은 호흡기 염증을 조절하는 잠재력을 보유하고 있는 것으로 볼 수 있으며, 호흡기 질환에서 진해, 거담, 항염의 효과를 기대해 볼 수 있다.

또한 마황윤폐탕 추출물은 표준 테스트에서 잠재적인 유전독성이 없다고 이미 보고되었으며¹², 임상 시험에 활용할 수 있는 반복 투여 독성 기록이 있다¹³.

이로 보아 마황윤폐탕은 호흡기 질환 치료제로 활용될 가능성이 높은 것으로 판단하여 본 연구를 진행하였다. 본 연구에서는 23.71%의 마황윤폐탕 추출물의 진해, 거담 및 항염 효과를 적절한 실험

동물 모델을 통해 조사하여 다양한 호흡기 질환 치료제로서의 가능성을 체계적으로 평가하고자 하였다.

II. 연구 방법

1. 재 료

1) 시 료

본 동물 모델 실험에서 사용한 마황윤폐탕은 22종의 약제로 구성되어 있다(Table 1). 대구한의대학교 대구한방병원에서 약제를 제공했으며 총 612 g의 약제를 6.12 L의 증류수에 넣은 후 100 °C로 2.5 시간 가열하여 열수 추출 후 동결건조 하였다. 동결건조 된 마황윤폐탕 추출물은 총 145.11 g이었으며 빛과 습기로부터 보호하기 위해 사용 전까지 -20 °C에서 냉동 보관하였다.

Table 1. Composition of *Mahwangyounpae-tang*

Herbs	Amounts (g)
<i>Ephedrae Herba</i>	80
<i>Cinnamomi Ramulus</i>	80
<i>Platycodi Radix</i>	60
<i>Fritillariae Bulbus</i>	60
<i>Armeniaca Semen</i>	60
<i>Schizandrae Fructus</i>	40
<i>Gelatinum</i>	40
<i>Aurantii Immaturi Pericarpium</i>	40
<i>Ponciri Fructus</i>	40
<i>Amomi Semen</i>	40
<i>Glycyrrhiza Radix</i>	40
<i>Crataegi Fructus</i>	40
<i>Hordei Fructus Germinatus</i>	40
<i>Massa Medicata Fermentata</i>	40
<i>Perillae Semen</i>	40
<i>Raphani Semen</i>	40
<i>Perillae Herba</i>	40
<i>Asteris Radix</i>	40
<i>Magnoliae Cortex</i>	40
<i>Mori Cotex Radicis</i>	40
<i>Sinapis Semen</i>	40
<i>Plantaginis Semen</i>	40
Total	1,020

2) 시약 및 대조약물

진해효과 실험은 NH_4OH 로 기침을 유발하여 TB와 대조하였고, 거담효과 실험은 페놀레드로 마우스 모델을 만들어 암브록솔(Ambroxol, AM)과 대조하였고, 항염효과 실험군은 Xylene으로 염증을 발생시켜 텍사메타손(Dexamethasone, DEXA)과 비교하였다.

테오브로민(Theobromine, TB) 및 AM, DEXA는 Sigma-Aldrich(St. Louise, MO, USA)에서 구입하여 변성을 방지하기 위해 사용 전까지 4 °C에서 냉장 보관하였다.

NH_4OH 은 Sigma-Aldrich(St. Louise, MO, USA)에서 구입하여 변성을 방지하기 위해 사용 전까지 4 °C에서 냉장 보관하였으며, 페놀레드는 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan), Xylene은 덕산약품(한국, 안산)에서 구입하여 실온 보관하였다.

3) 동 물

6주 된 29~32 g의 수컷 SPF/VAF CrljOri:CD1 [ICR] 마우스(OrientBio, 한국 성남)로 실험을 진행하였다. 마우스는 온도(20~25 °C) 및 습도(50~55%)가 조절된 방에서 폴리카보네이트 케이지 하나 당 4마리씩 분배되었다. 명암 주기는 12시간:12시간이었고 설치류 표준먹이(Cat. No. 38057; Purinafeed, 성남, 한국)와 물을 자유롭게 공급하였다. 모든 실험동물은 실험동물의 사용 및 윤리에 관한 국가 규정에 따라 처리되었으며, 대구한의대학교(경북 경산) 동물실험윤리위원회의 승인을 받았다(DHU2017-034, 2017년 4월 11일).

2. 방 법

1) 진해 실험

동물 실험으로 진해 효과를 확인하는 실험에서 NH_4OH 를 투여한 후 기침 횟수를 측정하는 방법은 유효하다¹⁴. 이를 근거로 본 실험에서 마황윤폐탕의 진해 효과를 확인하기 위해 NH_4OH 노출 기침 마우스 모델을 선택하였고, 대조군으로 강력한 진해효과를 나타내는 TB를 선택하였다⁴.

(1) 동 물

85마리의 마우스를 준비한 후, 7일간의 순응기간을 거쳐 체중을 기준으로 각각 8마리씩 6개 그룹으로 나누었다.

(2) 그 룩

각 군 당 8마리씩 총 6개군으로 설정하였다.

1. 정상 대조군(멸균증류수 투여 후, NH_4OH 에 노출하지 않은 대조군)

2. NH_4OH 대조군(멸균 증류수 투여 후, NH_4OH 에 노출한 대조군)

3. TB(TB 50 mg/kg 투여 후 NH_4OH 에 노출한 약물 대조군)

4. 마황윤폐탕400(마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg 투여 후 NH_4OH 노출한 고용량 실험군)

5. 마황윤폐탕200(마황윤폐탕 추출물 200 mg/kg 투여 후 NH_4OH 노출한 중간 용량 실험군)

6. 마황윤폐탕100(마황윤폐탕 추출물 100 mg/kg 투여 후 NH_4OH 노출한 저용량 실험군)

(3) 투 여

마황윤폐탕 추출물을 40, 20, 10 mg/ml 농도로 증류수에 현탁시키고, 1 ml 주사기에 존테를 연결하여 10 ml/kg(400, 200, 100 mg/kg에 해당)의 부피로 NH_4OH 노출 전 11일 동안 1일 1회 경구 투여하였다. 또한, TB는 5 mg/ml 농도로 증류수에 녹이고, NH_4OH 노출 전 11일 동안 10 ml/kg(50 mg/kg 상당)의 부피로 1일 1회 경구 투여하였다. 정상 대조군과 NH_4OH 대조군에서는 증류수 10 ml/kg을 1일 1회 경구 투여하였다.

(4) 기침 유도 및 모니터링

기침은 마지막 11회 실험물질(마황윤폐탕, TB) 투여 후 1시간에 1,000 ml 유리 삼각플라스크에 담긴 25% NH_4OH (Sigma-Aldrich, St. Louise, MO, USA) 0.3 ml를 개별적으로 45초 동안 1회 흡입하도록 유도하였다. NH_4OH 노출 후 기침 횟수는 비디오 관찰 장비를 사용하여 6분 동안 측정했다. 정상 대조군은 NH_4OH 대신 45초 동안 1,000 ml 유리 삼각 플라스크에 담긴 0.3 ml의 식염수에 노출

시켰다. 마우스의 기침은 기침 소리를 동반하며 입을 벌리고 몸을 움츠리며 흉부 및 복부 근육의 수축이 있는 것을 기준으로 하였다¹⁴.

2) 거담 실험

거담제의 기전 중 하나인 점액분비 기능을 조사하여 약물의 거담효과를 평가하였으며, 쥐의 기관지에 대한 효과적인 실험인 페놀레드 분비법을 사용했다¹⁵. 대조군으로는 점성 또는 과도한 객담과 관련된 호흡기 질환 치료에 사용되어 온 AM을 선택했다⁶.

(1) 동 물

68마리의 마우스를 준비한 후, 7일간의 순응기간을 거쳐 체중을 기준으로 각각 8마리씩 5개 그룹으로 나누었다.

(2) 그 룩

각 군당 8마리씩 5개 그룹으로 나누었다.

1. 정상 대조군(멸균증류수 투여 정상 대조군)
2. AM(AM 250 mg/kg 투여 약물 대조군)
3. 마황윤폐탕400(마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg 투여 고용량 실험군)
4. 마황윤폐탕200(마황윤폐탕 추출물 200 mg/kg 투여 중간 용량 실험군)
5. 마황윤폐탕100(마황윤폐탕 추출물 100 mg/kg 투여 저용량 실험군)

(3) 투 여

마황윤폐탕 추출물을 40, 20, 10 mg/ml 농도로 증류수에 현탁시키고, 1 ml 주사기에 존데를 연결하여 10 ml/kg(400, 200, 100 mg/kg에 해당)의 부피로 페놀레드 처리 전 11일 동안 1일 1회 경구 투여하였다. 또한, AM은 25 mg/ml 농도로 증류수에 녹이고, 페놀레드 처리 전 11일 동안 10 ml/kg(250 mg/kg 상당)의 부피로 1일 1회 경구 투여하였다. 정상 대조군에서는 증류수 10 ml/kg을 1일 1회 경구 투여하였다.

(4) 점액분비물 측정

마지막 11회 실험물질(마황윤폐탕, AM) 투여 30분 후 식염수 10 ml/kg에 용해된 5% 페놀 레드

(Junsei Chemical Co. Ltd., Tokyo, Japan) 용액을 1 ml 주사기로 복강 주입하였다. 페놀 레드 주입 30분 후, 마우스를 기관 손상 없이 경추 탈구로 희생시키고 육안으로 체포면 발적을 관찰한 뒤 절개하여 마우스의 기관지를 얻었다. 초음파발생기(Model 5210, Branson Ultrasonics, Danbury, CT, USA)를 사용하여 15분간 초음파를 가한 후, 생리식염수에 NaHCO₃ 용액 1 ml(5%, w/v)를 첨가하여 기관을 처리한 뒤 마이크로플레이트 판독기(Model Sunrise, Tecan, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 546 nm에서 기관세척액(Trachea lavage fluid, TLF)을 측정하였다¹⁵.

3) 항염증 실험

기침을 발생시키는 또 다른 요인인 기관지 염증을 억제하는 항염증 효과를 평가하기 위해 xylene 유도 급성 염증 마우스 귀 모델을 선택했으며¹⁶, 항염증 효과가 좋은 DEXA를 대조군으로 선택했다¹⁷.

(1) 동 물

84마리의 마우스를 준비한 후, 7일간의 순응기간을 거쳐 체중을 기준으로 각각 8마리씩 6개 그룹으로 나누었다.

(2) 그 룩

각 군 당 8마리씩 총 6개군으로 설정하였다.

1. 정상 대조군(멸균증류수 투여 후, xylene을 도포하지 않은 대조군)
2. Xylene 대조군(멸균 증류수 투여 후, xylene을 국소 도포한 대조군)
3. DEXA(DEXA 1 mg/kg 투여 후 xylene을 국소 도포한 약물 대조군)
4. 마황윤폐탕400(마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg 투여 후 xylene을 국소 도포한 고용량 실험군)
5. 마황윤폐탕200(마황윤폐탕 추출물 200 mg/kg 투여 후 xylene을 국소 도포한 중간 용량 실험군)
6. 마황윤폐탕100(마황윤폐탕 추출물 100 mg/kg 투여 후 xylene을 국소 도포한 저용량 실험군)

(3) 투 여

마황윤폐탕 추출물을 40, 20, 10 mg/ml 농도로

증류수에 현탁시키고, 1 ml 주사기에 존데를 연결하여 10 ml/kg(400, 200, 100 mg/kg에 해당)의 부피로 xylene 국소 도포 전 11일 동안 1일 1회 경구 투여하였다. 또한, DEXA 수용성 과립을 1.5 mg/ml (DEXA 자체 기준으로 0.1 mg/ml) 농도로 증류수에 녹이고, xylene 국소 도포 전 11일 동안 10 ml/kg (1 mg/kg 상당)의 부피로 1일 1회 경구 투여하였다. 정상 대조군과 Xylene 대조군에서는 증류수 10 ml/kg을 1일 1회 경구 투여하였다.

(4) 급성 염증 유도

마지막 11회 시험물질(마황윤폐탕, DEXA) 투여 1시간 후, 0.03 ml의 xylene(덕산약품, 한국 안산)을 오른쪽 귀 전면에 1회 국소 도포하여 급성 염증을 유발하였다¹⁶. 정상대조군과 xylene 대조군에서는 동일한 부피의 식염수를 국소 도포하였다.

(5) 귀 무게 측정

Xylene 국소 도포 2시간 후, 흡입 마취 하에 직경 7 mm의 코르크 천공기를 사용하여 유도된 귀의 원형 단면을 얻었다. 귀 원형단면의 무게(절대 중량)를 잰 다음, 아래 수식에 따라 상대 중량(체중의 %)을 계산하였다.

[상대 귀 중량(체중의 %)] = (귀 원형단면의 무게(절대 중량)/희생 시 마우스의 체중) × 100]

3. 통계

측정된 모든 데이터는 6개의 독립적인 측정값의 평균±표준편차(SD)로 표시하였고, 동물 실험의 모든 데이터는 8마리의 ICR 마우스의 평균±표준편차(SD)로 표시하였다. 분산 균질성은 Levene test

를 사용했다. Levene 테스트가 분산 균질성에서 유의미한 편차를 나타내지 않으면, 얻은 데이터를 one way ANOVA 테스트를 활용해 최소 유의차 다중 비교(Least-significant differences multi-comparison) 테스트로 분석하여 유의한 차이가 있는지 확인했다. 비모수 비교 테스트인 Levene 테스트에서 분산 균질성에서 유의한 편차가 관찰된 경우 Kruskal-Wallis H 테스트를 수행했다. Kruskal-Wallis H 검정에서 유의한 차이가 관찰되면 Mann-Whitney U(MW) 검정을 수행하여 그룹 간 유의성을 특정했다. 통계 분석은 Windows용 SPSS(Release 14.0K, IBM SPSS Inc., Armonk, NY, USA)를 사용했다. 차이는 P<0.05에서 유의미한 것으로 간주했다.

III. 연구 결과

1. 진해 실험

1) 기침 빈도

정상대조군과 비교하여 NH₄OH 대조군에서는 기침 횟수의 유의한 증가가 관찰되었다(p<0.01). 그러나 마황윤폐탕 400, 200 및 100 실험군에서는 각각 NH₄OH 대조군 마우스와 비교하였을 때 기침 횟수가 용량 의존적으로 유의하게 감소되었다(p<0.01). 또한 TB 50 mg/kg을 처리한 마우스에서도 NH₄OH 대조군에 비해 기침 횟수가 유의하게 감소(p<0.01)하였으며, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg은 NH₄OH으로 유도된 기침에서 TB 50 mg/kg과 유사한 기침 억제 효과를 보였다(Table 2, Fig. 1).

Table 2. Number of Cough in 6 min

Animals	Intact	Control	TB	MHYPT400	MHYPT200	MHYPT100
1	4.00	82.00	29.00	38.00	42.00	52.00
2	5.00	72.00	38.00	32.00	32.00	58.00
3	3.00	62.00	42.00	52.00	36.00	35.00
4	4.00	95.00	22.00	20.00	51.00	42.00
5	4.00	73.00	18.00	36.00	30.00	68.00
6	5.00	66.00	43.00	22.00	44.00	55.00
7	6.00	61.00	36.00	29.00	36.00	58.00
8	8.00	72.00	51.00	41.00	62.00	42.00
Mean	4.88	72.88	34.88	33.75	41.63	51.25
SD	1.55	11.22	11.17	10.43	10.69	10.83
%changes		1394.87	-52.14	-53.69	-42.88	-29.67

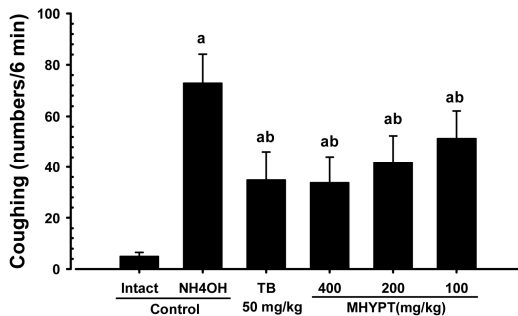


Fig. 1. Changes on the coughing frequencies in antitussive assay.

Values are expressed mean±SD (standard deviation) of eight mice.

^a p<0.01 as compared with intact control by LSD (least significant deviation) test.

^b p<0.01 as compared with NH₄OH control by LSD (least significant deviation) test.

NH₄OH 대조군에서 정상대조군에 비해 기침 횟수가 1394.87% 증가하였다. TB 50 mg/kg에서는 NH₄OH 대조군에 비해 기침 횟수가 52.14% 감소하였고, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg에서는 53.69%, 마황윤폐탕 추출물 200 mg/kg에서는 42.88%, 마황윤폐탕 추출물 100 mg/kg에서는 29.67%의 기침 횟

수 감소가 관찰되었다.

2. 거담 실험

1) 체표면 소견

마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg에서는 정상대조군에 비해 용량 의존적으로 신체 발적 증가가 확인되었는데, 이는 주입된 페놀 레드 흡수 및 분비가 증가되었음을 의미한다. AM 250 mg/kg을 처리한 마우스는 정상대조군에 비해 페놀레드 주입 30분 동안 급격한 발적 증가를 보였고, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg도 양호한 증가를 나타냈다.

2) 점액분비 변화

기관세척액(Trachea lavage fluid, TLF)의 Optical density(OD) 값은 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 실험군에서 정상대조군에 비해 유의하고(p<0.01) 용량 의존적인 증가를 나타냈는데 이는 기관 점액 분비의 증가로 볼 수 있다¹³. 또한, AM 250 mg/kg 처리된 마우스도 정상대조군과 비교하여 TLF의 OD 값이 유의하게(p<0.01) 증가하였고, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg과 유사한 결과 값을 나타냈다(Table 3, Fig. 2).

Table 3. Optical Density at 546 nm

Animals	Intact	AM	MHYPT400	MHYPT200	MHYPT100
1	0.275	0.362	0.316	0.298	0.301
2	0.262	0.354	0.306	0.316	0.298
3	0.227	0.344	0.354	0.332	0.281
4	0.254	0.409	0.428	0.305	0.301
5	0.248	0.421	0.362	0.295	0.275
6	0.232	0.375	0.407	0.382	0.292
7	0.206	0.332	0.413	0.375	0.312
8	0.307	0.362	0.352	0.366	0.317
Mean	0.251	0.370	0.367	0.334	0.297
SD	0.031	.031	0.045	0.036	0.014
%changes		47.14	46.10	32.72	18.20

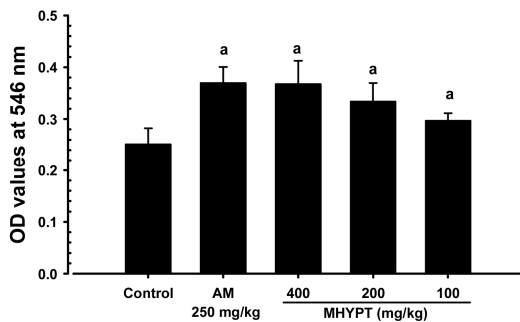


Fig. 2. Changes on the mucous secretions in expectorant assay.

Values are expressed mean±SD (standard deviation) of eight mice.

^a $p < 0.01$ as compared with intact control by LSD (least significant deviation) test.

AM 250 mg/kg과 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 경구 투여 마우스의 TLF OD 값은 정상대조군과 비교하여 각각 47.14, 46.10, 32.72 및 18.20%의 증가를 보였다.

3. 항염증 실험

1) 귀 소견

급성 염증으로 간주될 수 있는 귀의 충혈과 부종¹⁶이 xylene대조군에서 xylene 국소 도포 2시간 후 나타났다. 그러나 이러한 급성 염증소견이 마황

윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 투여군에서는 xylene대조군에 비해 용량의존적으로 억제되었다. 또한, DEXA 1 mg/kg을 처리한 마우스도 xylene대조군에 비해 귀의 충혈 및 부종의 현저한 감소를 보였다.

2) 귀 무게 변화

정상대조군과 비교하였을 때, xylene대조군에서는 xylene 국소 도포 2시간 후 귀의 절대 중량과 상대 중량이 상당히($p < 0.01$) 증가하였다. 그러나 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 실험군에서는 각각 xylene대조군과 비교하였을 때, 귀의 절대 중량 및 상대 중량이 용량의존적으로 유의하게($p < 0.01$) 감소하였다. DEXA 1 mg/kg을 처리한 실험군도 xylene대조군에 비해 귀의 절대 중량 및 상대 중량의 유의한 감소($p < 0.01$)를 보였고, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg 과 비슷한 효과를 나타냈다(Table 4, Fig. 3).

마우스 귀의 절대 중량은 정상대조군을 기준으로 xylene대조군에서는 81.65%의 증가가 나타났지만, DEXA 1 mg/kg에서는 44.80%, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg에서는 33.97%, 200 mg/kg에서는 25.62%, 100 mg/kg에서는 17.72%로 감소했다.

마우스 귀의 상대 중량은 정상대조군을 기준으로 xylene대조군에서는 83.13%의 증가가 나타났지

만, DEXA 1 mg/kg에서는 36.19%, 마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg에서는 35.13%, 200 mg/kg에서는 27.09%, 100 mg/kg에서는 18.25%로 감소했다.

Table 4. Ear Weights (g) (Right Sides)

Animals	Intact	Control	DEXA	MHYPT400	MHYPT200	MHYPT100
1	0.049	0.079	0.039	0.061	0.062	0.062
2	0.043	0.083	0.041	0.059	0.059	0.071
3	0.048	0.092	0.042	0.048	0.055	0.077
4	0.051	0.088	0.049	0.044	0.067	0.059
5	0.050	0.085	0.054	0.068	0.075	0.063
6	0.042	0.078	0.053	0.052	0.052	0.072
7	0.046	0.086	0.048	0.057	0.068	0.081
8	0.047	0.092	0.051	0.062	0.070	0.077
Mean	0.047	0.085	0.047	0.056	0.064	0.070
SD	0.003	0.005	0.006	0.008	0.008	0.008
%changes		81.65	-44.80	-33.97	-25.62	-17.72

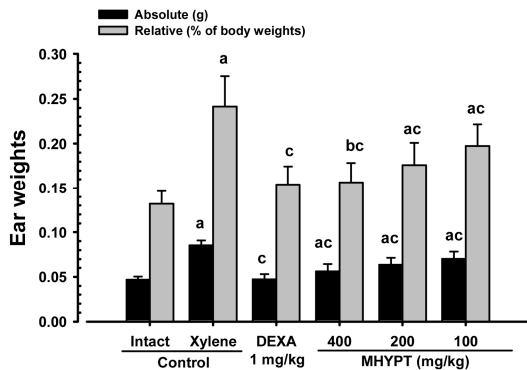


Fig. 3. Changes on the ear weights in anti-inflammatory assay.

Values are expressed mean±SD (standard deviation) of eight mice.

^a p<0.01 and ^b p<0.01 as compared with intact control by LSD (least significant deviation) test.

^c p<0.01 as compared with xylene control by LSD test.

IV. 고찰 및 결론

기침은 천식, 만성 기관지염 및 폐렴과 같은 많은 호흡기 질환과 관련된 일반적인 증상 중 하나

이며¹⁸ 많은 객담을 동반한 기침은 호흡기 질환의 흔한 증상이다.¹⁹ 어떤 경우에는 과도한 객담이 호흡 억제 또는 질식을 유발할 수도 있다.²⁰ 또한 염증은 다양한 호흡기 질환의 발병기전에 관여한다.^{21,22} 따라서 호흡기 질환에 사용되는 약물은 진해, 거담 및 항염 작용을 동시에 가지고 있어야 한다.^{23,24}

현재 기침은 다양한 약물로 조절할 수 있지만, 문제는 불가피하게 부작용을 초래한다는 것이다.^{8,25,26} 따라서 다양한 호흡기 질환 및 그 증상 치료에서 진해제, 거담제 및 항염증제에 대한 수요가 증가하고 있다.^{19,23,24}

마황윤폐탕은 마황탕(麻黃湯)과 인삼윤폐탕(人參潤肺湯), 행소탕(杏蘇湯), 삼자양친탕(三子養親湯)에 기초한 처방으로 만성기침과 천식에 사용되어 왔다.¹¹ 본 연구에서는 마황(Ephedrae Herba), 계지(Cinnamomi Ramulus), 길경(Platycodi Radix), 패모(Fritillariae Bulbus), 행인(Armeniacae Semen), 오미자(Schizandrae Fructus), 아교(Gelatinum), 진피(Aurantii Immaturi Pericarpium), 지실(Ponciri Fructus), 사인(Amomi Semen), 감초(Glycyrrhiza

Radix), 산사육(Crataegi Fructus), 맥아(Hordei Fructus Germinatus), 신곡(Massa Medicata Fermentata), 소자(Perillae Semen), 내복자(Raphani Semen), 소엽(Perillae Herba), 자완(Asteris Radix), 후박(Magnoliae Cortex), 상백피(Mori Cotex Radix), 백개자(Sinapis Semen), 차전자(Plantaginis Semen)로 총 22종의 약제가 사용되었다. 마황탕은 머리와 온몸의 관절이 아프고 기침이 나는 감기, 급성 기관지염에 활용된다²⁷. 인삼윤폐탕은 비위를 보(補)해주는 이종탕에 마황, 갈근, 백지, 길경을 넣어 담열(痰熱)과 습담(濕痰)으로 기침을 할 때 사용할 수 있어 급·만성 기관지염 등에 활용된다²⁸. 행소탕은 기질적인 이상은 없으나 목에 뭔가 걸린 것 같은 느낌으로 기침이 있을 때 사용하며 기관지확장증에 기침, 객담을 호전시킬 목적으로 다용되는 처방이다²⁹. 삼자양친탕은 객담이 많고 숨이 차며 기침을 하는 증상에 쓰인다³⁰. 이로 보아 마황탕과 인삼윤폐탕, 행소탕, 삼자양친탕을 합하여 가감한 마황윤폐탕은 기침과 객담, 기관지의 염증에 효과가 있을 것으로 유추할 수 있으며, 이전 연구에서 효과가 일부 확인되었다^{9,10}. 마황윤폐탕은 서 등³¹의 연구와 김 등³²의 연구에서 항염 효과에 대해 서술하였으나 마황윤폐탕 단독의 항염 효과에 대한 근거는 부족하였으며, 김 등⁹의 연구에서 마황윤폐탕 단독의 항염, 거담 효과에 대해 서술하였으나 진해에 대한 연구가 부족하였다. 본 연구는 마황윤폐탕 단독의 진해, 거담, 항염의 효과를 확인함과 동시에 호흡기 증상 치료제로 흔히 쓰이는 TB, AM, DEXA와 그 효과를 비교하여 기존 호흡기 치료제의 대체제로서의 가능성을 확인한 것에 의의가 있다.

본 실험에서 NH₄OH 노출에 의한 기침, xylene 도포에 의한 귀의 급성 염증이 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 투여에 의해 용량 의존적으로 억제되었으며, 11일간 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg 투여 후 phenol red 복강 투여 시 현저한 TLF의 OD value 증가, 체표 발적 현상

의 증가가 용량 의존적으로 확인됐다.

마황윤폐탕 추출물 400 mg/kg은 NH₄OH 노출 기침 마우스 모델에서 TB 50 mg/kg과 유사한 진해 효과를 나타냈고, phenol red 점액 분비 마우스 모델에서 AM 250 mg/kg과 유사한 거담 효과를 나타내었으나, xylene 유발 마우스 귀 급성 염증 모델에서는 DEXA 1 mg/kg 보다 비교적 낮은 항염 효과를 나타냈다.

이상의 결과를 종합해볼 때 마황윤폐탕 추출물 400, 200 및 100 mg/kg의 경구투여는 본 실험의 조건 하에서, 용량 의존적으로 진해, 거담 및 항염 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다. 따라서 마황윤폐탕 추출물은 다양한 호흡기 질환 치료제로서의 개발 가능성이 매우 높을 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Birring SS, Prudon B, Carr AJ, Singh SJ, Morgan MD, Pavord ID. Development of a symptom specific health status measure for patients with chronic cough: Leicester Cough Questionnaire (LCQ). *Thorax* 2003;58:339-43.
2. Irwin RS, Corrao WM, Pratter MR. Chronic persistent cough in the adult: the spectrum and frequency of causes and successful outcome of specific therapy. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123(4 Pt 1):413-7.
3. Kim SK, Chang J. Respiratory Symptoms Relievers - Antitussives, Mucolytics, Antihistamines -. *Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2006;60(3):261-9.
4. Usmani OS, Belvisi MG, Patel HJ, Crispino N, Birrell MA, Korbonits M, et al. Theobromine inhibits sensory nerve activation and cough. *FASEB J* 2005;19(2):231-3.
5. Sutton RH. Cocoa poisoning in a dog. *Vet Rec* 1981;109(25-26):563-4.

6. Beeh KM, Beier J, Esperester A, Paul LD. Antiinflammatory properties of ambroxol. *Eur J Med Res* 2008;13(12):557-62.
7. Molina G, Holguin E, Teran E. Oral ambroxol supplement in pregnant women induces fetal lung maturation. *Am J Obstet Gynecol* 2004;191(6):2177.
8. Tasaka K. Antiallergic drugs. *Drugs of today* 1986;22(3):101-33.
9. Kim JY, Park DI, Kim JD, Kam CW. Effects of Mahwangyounpae-tang on asthma induced by ovalbumin in mouse. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 2003;17(6):1453-62.
10. Liu HS, Song KK, Park MY, Choi HY, Gu DM, Kim JD. Synergic effect of Mahwangyounpae-tang and ciprofloxacin on 5 strains of aerobic Gram-negative bacteria. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 2005;19(3):684-9.
11. An TH, Song KK, Jeon KO, Seo YH, Cho DH, Park MY, et al. Investigation of in vivo synergism of mawhangyounpye-tang, a poly-herbal formula and ciprofloxacin against streptococcus pneumoniae respiratory infection. *J Korean Oriental Med* 2005;26(2):13-24.
12. Seo JY, Park MY, Jung TY, Choi HY, Kim JD, Lee HS, et al. Genotoxicity testing of aqueous extracts of Mahwangyounpae-tang, a polyherbal formula. *Food Chem Toxicol* 2008;46(12):3827-31.
13. Park MY, Choi HY, Kim JD, Lee HS, Ku SK. 28 Days repeated oral dose toxicity test of aqueous extracts of Mahwangyounpae-tang, a polyherbal formula. *Food Chem Toxicol* 2010;48(8-9):2477-82.
14. Zhang JL, Wang H, Pi HF, Ruan HL, Zhang P, Wu JZ. Structural analysis and antitussive evaluation of five novel esters of verticinone and bile acids. *Steroids* 2009;74(4-5):424-34.
15. Engler H, Szelenyi I. Tracheal phenol red secretion, a new method for screening mucosecretolytic compounds. *J Pharmacol Methods* 1984;11(3):151-7.
16. Cho KH, Kim HD, Lee BW, Lim MK, Ku SK. Effects of magnetic infrared laser on xylene-induced acute inflammation in mice. *J Phys Ther Sci* 2008;20(4):255-9.
17. Ku SK, Kim JW, Cho HR, Kim KY, Min YH, Park JH, et al. Effect of β -glucan originated from *Aureobasidium pullulans* on asthma induced by ovalbumin in mouse. *Arch Pharm Res* 2012;35(6):1073-81.
18. Irwin RS, Madison JM. The diagnosis and treatment of cough. *N Engl J Med* 2000;343(23):1715-21.
19. Yu P, Cheng S, Xiang J, Yu B, Zhang M, Zhang C, et al. Expectorant, antitussive, anti-inflammatory activities and compositional analysis of *Aster tataricus*. *J Ethnopharmacol* 2015;164:328-33.
20. Rose MC, Nickola TJ, Voynow JA. Airway mucus obstruction: mucin glycoproteins, MUC gene regulation and goblet cell hyperplasia. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25(5):533-7.
21. Sanak M. Eicosanoid mediators in the airway inflammation of asthmatic patients: What is new? *Allergy Asthma Immunol Res* 2016;8(6):481-90.
22. Woloski JR, Heston S, Escobedo Calderon SP. Respiratory allergic disorders. *Prim Care* 2016;43(3):401-15.
23. Li ZY, Zhi HJ, Xue SY, Sun HF, Zhang FS, Jia JP, et al. Metabolomic profiling of the flower bud and rachis of *Tussilago farfara* with antitussive and expectorant effects on mice. *J Ethnopharmacol* 2012;140(1):83-90.

24. Wang D, Wang S, Chen X, Xu X, Zhu J, Nie L, et al. Antitussive, expectorant and anti-inflammatory activities of four alkaloids isolated from Bulbus of *Fritillaria wabuensis*. *J Ethnopharmacol* 2012; 139(1):189-93.
25. Sutton RH. Cocoa poisoning in a dog. *Vet Rec* 1981;109(25-26):563-4.
26. Derlet RW, Tseng JC, Albertson TE. Potentiation of cocaine and d-amphetamine toxicity with caffeine. *Am J Emerg Med* 1992;10(3):211-6.
27. Shin YS, Jeong JK, Lee SI. An analysis of Clinical Studies on Mahwang-tang. *Herbal Formula Science* 2019;27(1):87-100.
28. Lee MW, Seo CH, Park C, Lee WH, Choi YH, Park DI. Induction of Cdk inhibitor p27 and Inhibition of pRB Phosphorylation by Insamsapye-tang Treatment in Human Lung Cancer A549 Cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 2003;17(1):213-9.
29. Kang SH, Kim JH, Jang SB, Lee MY, Lee JA, Park SJ. Herbal medicine prescription analyses of bronchiectasis patients with claim data during 5 years (2013~2017). *Journal of Society of Preventive Korean Medicine* 2019; 23(3):1-12.
30. Lee JI, Seo UK. A Study of the Case Record on Dyspnea and Wheezing Asthma Recorded in Xu Ming Yi Lei An. *Herbal Formula Science* 2007;15(1):49-105.
31. Seo JY, Jeon KO, Song KK, Park MY, Choi HY, Kim JD. Effects of In Vivo Synergism of Mawhangyounpye-tang, a Poly-Herbal Formula and Rufloxacin of Quinolones against Klebsiella pneumoniae Respiratory Infections. *The Korea Journal of Herbology* 2004;19(4):81-9.
32. Kim DJ, Kim JD. Effects of In Vitro Synergism of Mawhangyounpye-tang, a Poly-Herbal Formula and Ciprofloxacin of Quinolones against 7 Strains of Gram Positive Bacteria. *The Korea Journal of Herbology* 2003;18(3):161-8.