

빈용 한약재의 진통 소염활성

박종은 · 최혁재 · 정석희¹ · 김남재* · 김동현²

경희대학교 동서의학연구소, ¹한의과대학, ²약학대학

Analgesic and Antiinflammatory Activities of Some Oriental Herbal Medicines

Jong-Eun Park, Hyuk-Jae Choi, Suk-Hee Jung¹, Nam-Jae Kim* and Dong-Hyun Kim²

East-West Medical Research Institute, ¹College of Oriental Medicine and
²College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-702, Korea

Abstract – Analgesic and antiinflammatory activities of several herbal medicines were investigated in order to develop the antiinflammatory drugs from oriental herbal medicines. 80% Ethanol extracts of *Ephedra sinica*, *Chaenoleles sinensis*, *Asiasarum siboldi*, *Nelumbo nucifera*, *Scolopendra subspinipes mutians*, *Evodia officinalis*, *Aremarrhenae asphodeloides*, *Bufo bufo gargarizans*, *Gardenia jasminoides*, *Piper longum*, *Carthamus tinctorius*, *Piperus nigrum*, *Magnolia officinalis* and *Siegesbeckia glabrescens* showed significant inhibitory effects on hyaluronidase, trypsin, and albumin denaturation *in vitro*. They also decreased the acetic acid-induced pain and vascular permeability induced by histamine in mice.

Key words – Antiinflammatory, analgesic, oriental herbal medicines.

한약은 인류가 수 천년 동안 임상경험을 토대로 많은 시행착오를 거쳐 우수한 것만을 사용하고 있는 것으로 근래에는 다양한 활성검색을 통한 신규물질개발을 위한 자원으로서 가치가 매우 높게 평가되고 있다. 특히, 천연물을 기원으로 하는 한약으로부터 진통, 항염증 활성을 지닌 물질의 탐색 등 신약개발을 위한 체계적인 연구가 진행되고 있으며 이미 한약에서도 진통 및 항염증 활성이 인정되고 있다.

한약을 포함한 천연물의 진통, 항염증 활성검색이 주로 성분화학적 측면에서 검토되고 있지만 동통이나 염증을 유발하는 증상은 여러 원인과 다양한 기전에 의하여 발생하고 있어 다양한 성분에 의한 다양한 활성을 나타내는 한약으로부터 진통 및 항염증 약물의 개발은 매우 유용할 것으로 추정된다. 특히 한약의 효능은 균형이 깨진 생체의 상태를 평형으로 유지될 수 있도록 조절하는 항상성 기능에 의한 것이라고

알려져 있다.

한편, 한의학적으로 전신근육동통, 류마티스 관절염, 통풍, 좌골신경통 등 염증성 질환은 비증(痺證)의 범주에 포함된다.¹⁾ 비증이란 풍한습열(風寒濕熱)의 외사(外邪)에 감촉됨으로써 기혈운행(氣血運行)이 폐색되어 근골(筋骨), 기육(肌肉), 관절 등에 동통, 마목(麻木), 중착(重着), 관절종대(關節腫大), 활동장애 등의 증상을 일으키는 질환을 말한다.^{2,3)}

따라서, 한방임상에서 비증에 이용되고 있는 한약이나 방제, 그리고 방제를 구성하는 한약재를 조사하여 비교적 많은 빈도로 출현하는 한약재와 지금까지 항염증 활성이 양호한 것으로 보고된 한약재들을 선정하여 그 중 출현빈도가 높은 한약재들을 우선 선정하여 기초 약물학적 측면에서 진통 및 항염증 활성을 평가하는 것이 유효한 방법 중의 하나로 생각된다. 한편, 이와 유사한 검색계를 이용하여 과루근, 하고초 및 위령선으로 구성된 관절염 치료약으로 SK제약(주)에서는 조인스™를 개발하였다.⁶⁾

*교신저자 : Fax : 02-966-2801

이에 저자 등은 우선 한방약물로부터 진통 및 항염증 약물을 개발하기 위한 연구의 일환으로 강 등⁴⁾ 및 임 등⁵⁾의 보고 등을 참고로 하여 비중에 활용빈도가 높은 한약재와 항염증 또는 진통작용에 유효한 활성을 보인 한약재들을 우선 선정하였다.⁶⁻¹⁰⁾ 따라서, 한의학적으로 비중에 유효한 한약재와 현대과학적 기법을 이용하여 체계적 연구를 통하여 유효하다고 인정된 한약재들을 비교·분석하여 출현빈도가 비교적 높은 한약재 즉, 감초, 당귀 등을 비롯한 약 70여종의 한약재를 선정하였다. 이들 한약재를 *in vitro*에서 항염증 활성평가법으로 이용되고 있는 hyaluronidase 저해활성, trypsin 저해활성 및 단백질 열변성 억제활성을 평가하여 활성을 보인 약재를 1차 선정하였다. 1차 screening을 통하여 비교적 양호한 활성을 지닌 약물들을 다음 단계로 *in vivo*에서 초산에 의한 writhing syndrome 억제효과 및 histamine으로 유발된 혈관투과성 항진 억제효과를 지표로 실험하여 의견을 얻었기에 보고한다.

재료 및 방법

실험재료 - 본 실험에서 사용한 재료는 서울시 동대문구 소재 약업사로 부터 구입하여 엄선한 것을 사용하였고, 각 시료의 학명, 사용부위 등을 Table I에 나타내었으며, voucher specimen은 본 연구소에 보관하였다.

검액의 조제 - 검액의 조제는 표준엑스조제법에 따라 조제하였다.¹¹⁾ 즉, 검체 500 g을 취하여 등근플라스크에 옮기고 여기에 80% 에탄올을 시료가 잠기도록 가하고 환류냉각기를 부착하여 수욕상에서 2시간 추출한 후 은시에 여과하였다. 그리고 잔사에 다시 앞의 조작을 반복하여 얻은 여액을 합한 다음 감압농축기를 이용하여 고형분이 30~40%가 되도록 농축한 후 동결건조기로 건조하여 얻어진 건조분말을 분쇄하여 밀폐된 병에 보관하여 사용하였으며, 수율은 Table I에 나타내었다.

시약 및 기기 - 시약으로는 DMAB(*p*-dimethylaminobenzaldehyde), hyaluronic acid(potassium salt, from human umbilical cord), hyaluronidase(type IV-S, from bovine testis), albumin(bovine, initial fraction by cold alcohol precipitation), histamine(diphosphate salt)는 Sigma 사(미국) 제품을, trypsin은 Difco Laboratories 제품을, casein, NaOH는 Junsei Chemical

Co., Ltd. 제품을, trichloroacetic acid, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 는 Kanto Chemical Co., Inc. 제품을, CaCl_2 는 Shinyo Pure Chemicals Co., Ltd. 제품을 이용하였으며, acetic acid는 Yakuri Pure Chemical 제품을 사용하였다. 본 실험에 사용한 기계로는 분광광도계(Shimadzu Co., Model UV-160A, 일본), ultra centrifuge(Vision Co., VS-35,000, 한국), sonicator, water bath(Han Back Scientific Co., 한국), 감압농축기(Eyela Co., Model NE-1, 일본), 동결건조기(Eyela Co., Model FD-1, 일본) 등을 사용하였다.

실험동물 - 실험동물로는 중앙동물로 부터 분양받은 ICR계 체중 25 g 전후 웅성 생쥐를 실험실 환경에 1주 이상 순응시킨 후 사용하였다. 사료로는 삼양유지 사료(주)의 고품사료를 이용하였으며 물을 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였고, 실험은 특별히 명시하지 않는 한 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 에서 실시하였다.

진통소염활성 관련 효소저해활성

Hyaluronidase 저해활성 - 각 검액을 일정 농도가 되도록 조제하여 각 검액을 각각 0.1 ml씩 시험관에 취하고 hyaluronidase 용액(from bovine testis, 7900 units in 0.1 M acetate buffer soln., pH 5.0) 0.05 ml를 가하고 잘 혼합한 후 37°C 에서 20분간 incubation한 다음 activator로서 12.5 mM CaCl_2 0.1 ml를 가하고 잘 혼합한 다음 다시 20분간 incubation하였다. 기질로서 0.12% hyaluronic acid-K 용액 0.25 ml를 가한 다음 다시 40분간 incubation하고 0.4 N NaOH 0.1 ml 및 potassium borate 용액(boric acid 49.44 g을 증류수 1 L에 녹인 용액에 KOH 22.4 g을 가하여 용해한 용액) 0.1 ml를 가하여 3분 동안 끓는 수욕상에서 가열하였다. 흐르는 물에 식힌 후 발색제로서 DMAB 시약(*p*-dimethylaminobenzaldehyde 10 g을 빙초산 : 10N HCl (7:1) 용액 100 ml에 녹인 용액을 다시 빙초산으로 10배 희석함) 3.0 ml를 가하여 37°C 에서 20분간 incubation한 다음 585 nm에서 흡광도를 측정하여 저해활성을 산출하였다.^{12,13)}

Trypsin 효소저해활성에 관한 실험 - Trypsin 효소저해활성은 Anson¹⁴⁾과 Tsutomu 등¹⁵⁾의 방법에 준하였다. 즉 trypsin (Difco Co.) 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 시료를 각각 1/15 M phosphate buffer(pH 7.6)에 용해시킨 용액을 각각 40 μl 씩 취하여 37°C 에서 20분간 가온하였다. 여기에 1.0% casein용액 0.4 ml씩 가한 후 37°C 에서 20분간 incubation하고, 5% trichloroacetic

Table I. Scientific name, crude drug name and 80% ethanol extract yield of herbal medicines

한약명	Scientific name	Used part	Family name	Yield of 80% EtOH extract (%)
감초	<i>Glycyrrhiza glabra</i> , <i>G. uralensis</i>	Root	Leguminosae	30.5
강활	<i>Angelica koreana</i>	Root	Umbelliferae	36.1
강황	<i>Curcuma longa</i>	Rhizome	Zingiberaceae	10.6
진강	<i>Zingiber officinale</i>	Rhizome	Zingiberaceae	15.3
고추	<i>Capsicum annuum</i>	Fruit	Solanaceae	25.6
골쇄보	<i>Drynaria hortunei</i>	Rhizome	Polypodiaceae	18.1
금은화	<i>Lonicera japonica</i>	Flower	Caprifoliaceae	25.6
길경	<i>Platycodon grandiflorum</i>	Root	Campanulaceae	34.8
남성	<i>Arisaema amurense</i>	Rhizome	Araceae	13.0
당귀	<i>Angelica gigantis</i>	Root	Umbelliferae	39.7
대황	<i>Rheum palmatum</i> , <i>R. coreanum</i>	Rhizome	Polygonaceae	35.3
도인	<i>Prunus persica</i>	Seed	Rosaceae	9.8
독활	<i>Aralia continentalis</i>	Root	Araliaceae	18.0
마황	<i>Ephedra sinica</i>	Whole plant	Ephedraceae	16.8
목과	<i>Chaenomeles sinensis</i>	Fruit	Rosaceae	25.4
목단피	<i>Paeonia suffruticosa</i>	Root	Paeniaceae	22.6
몰약	<i>Commiphora molmol</i>	Resin	Burseraceae	1.7
박하	<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i>	Leaf	Labiatae	20.3
반하	<i>Pinellia ternata</i>	Tuber	Araceae	6.8
방기	<i>Sinomenium acutum</i>	Root	Menispermaceae	4.9
방풍	<i>Ledebouriella seseloides</i>	Root	Umbelliferae	15.7
백개자	<i>Brassica juncea</i>	Seed	Cruciferae	8.2
백단향	<i>Santalum album</i>	Ligneous	Santalaceae	2.1
백부자	<i>Aconitum koreanum</i>	Tuber	Ranunculaceae	26.0
백작약	<i>Paeonia albiflora</i> P. var. <i>trichocarpa</i>	Root	Ranunculaceae	23.7
백지	<i>Angelica dahurica</i>	Root	Umbelliferae	34.3
백질러	<i>Tribulus terrestris</i>	Fruit	Zygophyllaceae	7.1
백출	<i>Atractylodes japonica</i>	Rhizome	Compositae	11.0
보골지	<i>Psoralea corylifolia</i>	Seed	Leguminosae	16.5
부자	<i>Aconitum carmichaeli</i>	Tuber	Ranunculaceae	5.2
빙편	<i>Dryobalanops aromatica</i>	-	Diterocarpaceae	-
생강	<i>Zingiber officinalis</i>	Rhizome	Zingiberaceae	2.9
섬수	<i>Bufo bufo gargarizans</i>	Venenum	Bufoidae	-
세신	<i>Asiasarum sieboldi</i>	Root	Aristolochiaceae	13.3
승마	<i>Cimicifuga heracleifolia</i>	Rhizome	Ranunculaceae	9.8
시호	<i>Bupleurum falcatum</i>	Root	Umbelliferae	17.9
양강	<i>Alpinia officinarum</i>	Rhizome	Zingiberaceae	11.7
연엽	<i>Nelumbo nucifera</i>	Leaf	Nymphaeaceae	8.0
연자육	<i>Nelumbo nucifera</i>	Seed	Nymphaeaceae	11.9
오공	<i>Scolopendra subspinipes mutilans</i>	Whole animal	Scolopendridae	27.4
오배자	<i>Melaphis chinensis</i>	Resin	Eriosomatidae	57.5
오수유	<i>Evodia officinalis</i>	Fruit	Rutaceae	23.1
우슬	<i>Achyranthes japonica</i>	Root	Amaranthaceae	30.4
위령선	<i>Clematis mandshurica</i>	Root	Ranunculaceae	19.2

Table I. Continued

한약명	Scientific name	Used part	Family name	Yield of 80% EtOH extract (%)
유근피	<i>Ulmus macrocarpa</i>	Stem bark	Ulmaceae	12.8
육계	<i>Cinnamomum cassia</i>	Stem bark	Lauraceae	5.0
인삼	<i>Panax ginseng</i>	Root	Araliaceae	20.6
장뇌	<i>Cinnamomum camphora</i>	-	Lauraceae	-
적작약	<i>Paeonia ilouata</i>	Root	Ranunculaceae	23.0
정향피	<i>Eugenia caryophyllata</i>	Stem bark	Myrtaceae	4.9
지렁	<i>Pheretima aspergillum</i>	Lumbricus	Pericaetae	15.6
지모	<i>Aremarrhenae asphodeloides</i>	Rhizome	Liliaceae	35.7
진범	<i>Aconitum longecassidatum</i>	Root	Ranunculaceae	14.0
창출	<i>Atractylodes lancea</i>	Rhizome	Compositae	9.7
천궁	<i>Cnidium officinalis</i>	Rhizome	Umbelliferae	26.6
천오	<i>Aconitum carmichaeli</i>	Root	Ranunculaceae	16.3
천화분	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Root	Cucurbitaceae	22.6
초오	<i>Aconitum ciliare</i>	Tuber	Ranunculaceae	16.9
치자	<i>Gardenia jasminoides</i>	Fruit	Rubiaceae	28.3
포공영	<i>Taraxacum platycarpum</i>	Whole plant	Compositae	24.9
필발	<i>Piper longum</i>	Fruit	Piperaceae	2.7
하고초	<i>Prunella vulgaris</i>	Whole plant	Labiatae	8.6
홍화	<i>Carthamus tinctorius</i>	Flower	Compositae	41.6
황금	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Root	Labiatae	34.2
황기	<i>Astragalus membranaceus</i>	Root	Leguminosae	23.4
황련	<i>Coptis japonica</i>	Rhizome	Ranunculaceae	15.8
황백	<i>Phellodendron amurense</i>	Stem bark	Rutaceae	10.9
과루실	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	Fruit	Cucurbitaceae	12.1
계지	<i>Cinnamomum cassia</i>	Ramulus	Lauraceae	3.4
지실	<i>Citrus aurantium</i>	Fruit	Rutaceae	29.0
해백	<i>Allium macrostemon</i>	Bulbous	Liliaceae	6.0
후박	<i>Magnolia officinalis</i>	Stem bark	Magnoliaceae	35.6
호초	<i>Piperus nigrum</i>	Fruit	Piperaceae	10.3
회침	<i>Siegesbeckia glabrescens</i>	Whole plant	Compositae	16.7
노봉방	<i>Polidrd olibaceous</i>	Resin	Vespidae	5.4
유향	<i>Boswellia carterii</i>	Resin	Bruseraceae	59.9

acid 1 ml씩 가하여 반응을 종료시키고 0.05 M HCl 40 μ l를 가한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 얻었다. 각 상등액 0.5 ml씩을 취하고 0.5 M NaOH 1 ml씩 가한 후 phenol 시약 0.3 ml씩을 가한 다음 37°C 수욕 중에서 15분간 incubation하고 다시 원심분리하여 얻은 상등액을 660 nm에서 흡광도를 측정하여 아래 식으로 부터 억제율을 산출하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{대조군의 흡광도} - \text{검액의 흡광도})}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

단백질 열변성 억제작용 - 한 등¹⁶⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 각 검액을 일정 농도가 되도록 조제하여 각 검액을 각각 1.0 ml씩 시험관에 취하고 bovine serum albumin(BSA)을 1/15 M phosphate saline buffer(pH 5.3)로 1% 용액이 되도록 조제하여 1 ml를 가하여 혼합한 다음 실온에서 20분 방치하였다. 다음에 67°C의 수욕상에서 약 2분 동안 진탕하면서 가열하여 변성시켰다. 가열 후 즉시 빙수에서 냉각시킨 다음 생성된 turbidity를 570 nm에서 흡광도를 측정하여 비교·관찰하였다.

In vivo에서의 진통소염작용

초산법에 의한 진통작용 - Whittle의 방법¹⁷⁾에 준하였다. 즉 생쥐 1군을 5마리로 하여 검액을 경구투여하고 30분 후에 0.7% 초산생리식염수액 0.1 ml/10g을 복강내 투여한 다음 10분 후 10분간의 생쥐가 나타내는 writhing syndrome의 빈도를 측정하여 비교 관찰하였다.

Histamine에 의한 혈관투과성 항진에 대한 영향 - 생쥐 1군을 6마리로 하여 J. D. Judah 등¹⁸⁾의 방법에 준하여 0.5% histamine 50 mg/kg을 생쥐 복강내에 주사하고 30분 후에 4% pontamine sky blue 400 mg/kg을 꼬리정맥내에 주사하였다. 색소투여 20분 후에 생쥐를 방혈치사시킨 후에 상법에 따라 개복하고 복강에 누출된 색소를 증류수 10 ml로 세척하였다. 세정액을 3,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상등액 중의 색소량을 분광광도계(Shimadzu, Japan)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하여 검량선으로 부터 pontamine sky blue량을 산출하였으며 아래의 식으로 부터 혈관투과성 항진억제 효과를 산출하였다. 검액을 각각 histamine액 투여 30분전에 투여하여 비교·관찰하였다.

$$\text{혈관투과성 항진억제효과(}\%) = \frac{(\text{검액 처치군의 색소누출량} - \text{대조군의 색소누출량})}{(\text{대조군의 색소누출량} - \text{histamine 비처리 정상군의 색소누출량})} \times 100$$

결과 및 고찰

한약의 진통소염관련 효소 저해활성

Hyaluronidase 효소활성 저해효과 - 한약재의 항염증 활성을 *in vitro*에서 검색하는 방법이 다수 알려져 있으며, 특히 *in vitro*에서 활성 검색시 제기될 수 있는 false positive effect나 false negative effect에 대한 오류를 최소한으로 하기 위하여 본 실험에서는 hyaluronidase와 trypsin 저해활성 및 serum albumin의 열변성에 대한 저해활성을 지표로 하였다.

우선, hyaluronidase는 mucopolysaccharide-splitting enzyme의 하나로서 모세혈관 투과성에 관여하고, 간염, 치주염 등의 염증부위에서 활성이 증가하고 급성 부종을 일으키며, chemical mediator의 유리에도 관여하는 등 염증발현과 관련이 있는 효소이다.¹⁹⁾ 또한 최근에는 이 hyaluronidase 저해활성 검색법이 천연물로부터 항염증제 개발을 위한 screening법으로도 이용되

고 있다.^{10,20,21)}

따라서, 항염증 활성검색에 이용되고 있는 *in vitro* bioassay로 hyaluronidase 저해활성을 지표로 각 한약재 80% EtOH 추출물 5 mg/ml와 10 mg/ml의 농도에서 각각의 저해효과를 Table II에 제시하였다. 감초를 비롯한 본 실험에서 사용한 한약재 시료 중에서 고농도인 10 mg/ml의 농도에서 80% 이상 저해효과를 나타내는 것은 감초, 건강, 대황, 목과, 연자육, 오배자, 유근피, 정향피, 하고초, 계지이며, 5 mg/ml의 농도에서 80% 이상 저해활성을 보이는 약재는 대황, 오배자, 하고초이었으며, 대황과 오배자는 다량의 tannin을 함유하고 있는 것에 기인하는 것으로 생각된다. 10 mg/ml의 농도에서 40~80%의 저해효과를 보이는 약재는 목단피, 백작약, 생강, 섬수, 양강, 우슬, 육계, 적작약, 지룡, 황금, 후박, 회침, 노봉방 등이었다.

Trypsin 효소활성 저해효과 - 항염증 활성을 *in vitro*에서 검색하고자 trypsin 효소저해 활성을 검토하였다. Serine protease는 혈관확장이나 모세혈관의 투과성 항진 등을 촉진하며 백혈구의 유주를 간접적으로 촉진하여 염증에 관여하는 cheminal mediator인 kinin의 유리에 관여하는 효소로 알려져 있다.^{22,23)} 이에 serine protease의 하나인 trypsin을 이용하여 trypsin 효소저해 활성을 측정하였다.

따라서, 각 시료의 항염증 활성을 검토하기 위하여 80% EtOH 추출물 5 mg/ml와 10 mg/ml의 농도에서 각각의 저해효과를 Table II에 제시하였다. 그 결과 10 mg/ml의 농도에서 80% 이상의 저해효과를 나타내는 한약재로는 대황, 마황, 목과, 목단피, 몰약, 연자육, 오공, 오수유, 인삼, 정향피, 지룡, 초오, 하고초, 계지, 후박, 회침, 유향이었다. 특히, 저농도 5 mg/ml의 농도에서도 80% 이상 저해활성을 보인 것은 대황, 마황, 목과, 목단피, 몰약, 연자육, 오공, 오수유, 인삼, 지룡, 계지, 유향으로 강한 항 trypsin 효과가 있음을 알 수 있었다. 그리고, 40~80%의 저해활성을 보인 것은 감초, 강황, 백작약, 섬수, 시호, 연염(하엽), 오배자, 진법, 창출, 하고초, 홍화, 노봉방 등이다.

혈청 albumin 열변성에 대한 효과 - Plasma protein과 결합하여 단백질 변성을 촉진하거나 또는 반대로 단백질을 안정화시키는 물질들이 plasma 중에 분비된 고분자성 염증 mediator 관련물질들의 안정성에 영향을 미칠 수 있는 것으로 알려져 있다.²⁴⁾ 그리고, Mizushima²⁵⁾의 연구에 의하면 plasma albumin의 열변성을 억제시키는 약물은 항염증 활성이 있는 것으로

Table II. Inhibitory effects of herbal medicines on hyaluronidase and trypsin activities, and albumin denaturation *in vitro*

Samples	Hyaluronidase		Trypsin		Albumin	
	5 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	1 mg/ml	2 mg/ml
Glycyrrhizae Radix	++	+++	+	++	+++	+++
Angelicae Koreanae Radix	-	-	-	-	-	+
Curcumae Longae Rhizoma	-	-	-	++	-	+
Zingiberis Rhizoma	-	+	-	+	+++	+++
Capsici Fructus	-	-	-	-	-	-
Drynariae Rhizoma	+	+	-	-	-	-
Lonicerae Flos	+	+	-	-	-	+
Platycodi Radix	-	-	-	-	-	-
Arisaematis Rhizoma	-	-	-	+	+++	+++
Angelicae Gigantis Radix	-	+	-	-	++	++
Rhei Rhizoma	+++	+++	+++	+++	-	-
Persicae Semen	+	+	-	-	+++	+++
Araliae Continentalis Radix	-	-	-	-	-	+
Ephedrae Herba	-	+	+++	+++	-	-
Chaenomelis Fructus	++	+++	+++	+++	-	-
Moutan Cortex Radicis	+	++	+++	+++	-	-
Myrrha	-	+	+++	+++	++	+
Menthae Folium	-	+	+	+	++	++
Pinnelliae Tuber	-	-	-	-	++	+++
Sinomeni Caulis et Rhizoma	+	++	-	+	+++	+++
Ledebouriellae Radix	-	-	-	-	+	++
Sinapis Semen	-	-	-	+	++	++
Santali Albae Lignum	-	-	-	+	-	-
Aconiti Koreanum Tuber	-	+	-	-	++	++
Paeoniae Radix	+	++	+	++	-	-
Angelicae Dahuricae Radix	+	+	-	+	-	+
Tribuli Fructus	-	-	-	-	+	++
Atractylodis Rhizoma alba	-	-	-	-	++	+++
Psoraleae Semen	-	-	-	++	++	++
Aconiti Tuber	-	-	-	-	-	+
Zingiberis Rhizoma Crudus	+	++	-	-	++	++
Bufois venum	+	++	+	++	++	++
Asiasari Radix	-	-	-	+	+++	+++
Cimicifugae Rhizoma	+	+	-	+	++	+++
Bupleuri Radix	-	-	-	++	+	+
Alpiniae Rhizoma	+	++	-	-	-	-
Nelumbinis Folium	+	+	++	++	-	+
Nelumbinis Semen	++	+++	+++	+++	-	-
Scolopendrae Corpus	-	-	+++	+++	+++	+++
Galla Rhois	+++	+++	++	++	-	-
Evodiae Fructus	-	+	+++	+++	-	-
Achyranthis Radix	+	++	-	+	++	+++
Clematidis Radix	-	+	-	-	-	++

Table II. Continued

Samples	Hyaluronidase		Trypsin		Albumin	
	5 mg/ml	10 mg/ml	5 mg/ml	10 mg/ml	1 mg/ml	2 mg/ml
Ulmus Cortex	++	+++	-	-	-	-
Cinnamomi Cortex Spissus	+	++	-	-	-	-
Ginseng Radix	-	-	+++	+++	++	++
Paeoniae Radix rubra	+	++	-	-	-	-
Caryophylli Cortex	++	+++	++	+++	-	-
Lumbricus	+	++	+++	+++	+++	+++
Aremarrhenae Rhizoma	-	-	-	-	+	++
Aconiti longecassidati Radix	-	-	-	++	++	+++
Atractylodis Rhizoma	-	-	-	++	++	++
Cnidii Rhizoma	+	+	-	-	+++	+++
Aconiti Radix	-	-	-	-	+	++
Trichosanthis Radix	-	-	-	-	++	++
Aconiti Ciliare Tuber	-	-	++	+++	++	++
Gardeniae Fructus	-	-	-	+	+++	+++
Taraxaci Herba	-	-	-	-	-	+
Piperis Longi Fructus	-	-	-	+	++	++
Prunellae Herba	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Carthami Flos	-	-	-	++	++	++
Scutellariae Radix	+	++	-	+	++	+++
Astragali Radix	-	-	-	-	+	++
Coptidis Rhizoma	-	-	-	-	-	-
Phellodendri Cortex	-	-	-	-	++	++
Trichosanthis Fructus	-	-	-	-	-	-
Cinnamomi Ramulus	++	+++	+++	+++	-	-
Aurantii Immaturi Fructus	-	+	-	-	++	++
Allii Macrostemii Bulbus	-	-	-	-	-	-
Magnoliae Cortex	++	++	++	+++	+++	+++
Piperis Nigri Fructus	-	-	-	+	++	+++
Sigesbeckiae Herba	++	++	++	+++	+++	+++
Vespaee Nidus	+	++	+	++	-	-
Olibanum	-	-	+++	+++	-	-

Each inhibitory activity was represented as % against control ; - : < 20%. + : 20 - 40%. ++ : 40 - 80%. +++ : >80%

로 보고하였으며, NSAIDs인 sodium salicylate에서도 열변성 억제활성이 인정됨을 보고한 바 있다.

따라서, 각 시료의 항염증 활성을 검토하기 위하여 80% EtOH 추출물 1 mg/ml와 2 mg/ml의 농도에서 각각의 저해효과를 Table II에 제시하였다. 그 결과 2 mg/ml의 농도에서 80% 이상의 저해효과를 나타내는 한약재로는 감초, 건강, 남성, 도인, 반하, 방기, 세신, 승마, 오공, 우슬, 지룡, 진범, 천궁, 치자, 하고초, 황금, 후박, 호초, 희침이었다. 특히, 저농도 1 mg/ml의 농도에서도 80% 이상 저해활성을 보인 것은 감초,

건강, 남성, 도인, 방기, 세신, 오공, 지룡, 천궁, 치자, 하고초, 후박, 희침이었다. 그리고, 40~80% 저해활성을 보인 것은 당귀, 몰약, 박하, 방풍, 백개자, 백부자, 백출, 보골지, 생강, 섬수, 위령선, 인삼, 지모, 천오, 천화분, 초오, 필발, 홍화, 황기, 황백, 지실 등이었다.

이상의 결과를 종합하면 hyaluronidase 및 trypsin 효소활성을 모두 80% 이상 저해시키는 것은 대황, 목과, 연자육, 정향피, 하고초, 계지 이었고, 이외에 두 종류 효소 모두 저해활성을 비교적 강하게 나타낸 것은 목단피, 오배자, 지룡, 후박, 희침 등이었다. 또한,

hyaluronidase 활성과 albumin 열변성을 모두 80% 이상 억제하는 것은 감초, 하고초이며, 이외에 두 효소 모두 저해활성을 비교적 강하게 나타내는 것은 지렁, 후박, 회침이다. 그리고, trypsin 활성과 albumin 열변성을 모두 80% 이상 저해하는 것은 오공, 하고초, 후박, 회침이고, 이외에 두 종류 효소 모두 저해활성을 비교적 강하게 나타내는 것은 몰약, 섬수, 우슬, 인삼, 초오 등이다. 특히, hyaluronidase 및 trypsin의 효소활성과 albumin 열변성을 모두 강하게 저해시키는 것은 지렁, 하고초, 후박, 회침이었다.

In vivo에서 진통소염효과

초산법에 의한 진통효과 - In vivo에서 항염증활성을 검토하기 위해서 우선 한 시료가 in vitro 실험에서 hyaluronidase 및 trypsin 활성과 albumin 열변성에 공히 강한 저해활성을 보인 감초, 계지, 대황, 목과, 목단피, 몰약, 연자육, 오공, 오배자, 우슬, 인삼, 정향피, 지렁, 초오, 하고초, 후박, 회침을 우선 선정하였다. 그리고, 한방임상에서 널리 염증치료 목적에 활용되거나 천연물 화학적으로 강한 진통, 소염활성 성분을 함유하는 한약재 등을 포함하여 건강, 고추, 당귀, 도인, 마황, 세신, 오수유, 위령선, 천화분, 치자, 황백, 필발, 홍화, 호초, 노봉방 등 37종을 in vivo에서 진통시험용 검체로 선정하였다.

검체의 진통효과를 평가하기 위하여 초산치리로 유도되는 복부의 수축반응을 지표로 하는 초산법을 이용하였다. 초산법은 Koster 등²⁶⁾이 초산을 이용한 writhing syndrome법을 보고하였고, Collier 등²⁷⁾은 초산을 생쥐의 복강내에 주사하면 생쥐가 나타내는 특유의 writhing syndrome 반응을 abdominal contraction response라 하여 진통약물 검정에 유용한 방법의 하나로 본 시험에서는 이 반응의 억제를 지표로 하여 진통효과를 평가하였다.

시료의 경구투여 용량은 일률적으로 1,000 mg/kg으로 하였으며 천오, 섬수, 마황, 호초는 1,000 mg/kg 투여용량에서 사망하거나 호흡곤란 등 부작용을 나타내는 경우가 있어 천오와 섬수는 100 mg/kg, 마황은 250 mg/kg, 호초는 500 mg/kg을 각각 경구투여하여 비교·관찰하여 그 결과를 Table III에 제시하였다.

시료의 진통효과는 생쥐가 나타내는 writhing syndrome의 빈도로 부터 생리식염수만을 투여한 각각 대조군의 writhing syndrome에 대한 억제율로 하였다. 그 결과 세신 60.2%, 섬수 65.4%, 후박 51.8%, 지

모 51.5%, 마황 76.2%, 호초 58.4%의 억제율을 보여 각각 대조군에 비하여 유의한 writhing syndrome 억제효과가 인정되었고, 특히 마황 투여군에서는 양성 대조약물로 사용한 aminopyrine 100 mg/kg 투여군과 유사한 writhing syndrome 억제효과를 나타내었다. 그리고, 회침 39.5%, 개자 41.4%, 치자 48.7%, 당귀 43.4%, 오수유 47.8%, 계지 41.6%의 억제율을 관찰할 수 있었으며 통계적으로 대조군에 비하여 유의한 writhing syndrome 억제효과가 각각 인정되었다. 그 이외에도 30% 이상의 writhing syndrome 억제효과를 보인 시료로는 초오, 목과, 부자, 노봉방, 도인, 홍화, 오공 및 후박이었으며 이들 검체 역시 대조군에 비하여 유의한 writhing syndrome 억제효과를 관찰할 수 있었다.

Histamine에 의한 혈관투과성 항진에 대한 억제효과 - 염증(inflammation)은 침해자극으로 부터 시작하여 치유에 이르는 반응으로 조직장해에 대한 방어 및 修復을 위한 합목적 반응이다. 염증의 4가지 주요한 증상은 발적, 종창, 열감, 동통이라고 할 수 있다. 염증의 원인으로서는 물리적 자극, 화학적 자극과 같은 외인적 인자나 각종 병원성 미생물에 의한 감염과 이종항원의 감각에 의한 알레르기 반응 등이 있다. 물리적 인자로서는 외상, 화상, 방사선 및 일광 등이 있고, 화학적 인자로서는 부식성 물질, 강산, 강알칼리 등이 있다. 세균이나 바이러스 감염은 염증 원인의 대부분을 차지하고 있다.^{28,29)} 그러므로 항염증약을 검색하기 위해서는 염증에 수반되는 부종, 혈관투과성의 항진에 대한 억제효과 및 백혈구 유주억제효과 등을 조사하는 방법이 이용되고 있다.^{28,30)}

염증부종에 있어서 모세혈과투과성이 항진되는 것은 혈장성분이 혈관외로 누출하는 것에 의하여 일어나는 증상으로 염증의 초기단계인 모세혈관투과성에 미치는 작용에 의하여 항염증 효과를 검정한다.²⁹⁾ 따라서, 혈관투과성 항진의 염증병태모델의 작성을 위하여 기염제로서 histamine, acetic acid 등을 사용하며 본 실험에서는 생체내 amine인 histamine을 사용하였다.^{31,32)} Histamine을 생쥐의 복강내 투여하여 혈관의 투과성 항진의 지표로 복강내로 유출하는 pontamine sky blue의 색소량을 지표로 하였다.

따라서, in vitro에서 hyaluronidase 및 trypsin 저해활성과 albumin 열변성 억제효과 및 in vivo에서 초산법에 의한 writhing syndrome 억제효과 등을 지표로 하여 histamine에 의한 혈관투과성 항진에 대한

Table III. Analgesic effect of herbal medicines on the Writhing syndrome induced by 0.7% acetic acid in mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Number of writhing syndrome (10 min.)	Inhibition (%)
Control	-	44.6±2.66	-
Capsici Fructus	1,000	32.8±2.57*	26.5
Prunellae Herba	1,000	36.6±2.09**	17.9
Sigesbeckiae Herba	1,000	27.0±1.14**	39.5
Nelumbinis Semen	1,000	31.8±1.85**	28.7
Clematidis Radix	1,000	36.0±0.70*	19.3
Phellodendri Cortex	1,000	43.4±0.76	2.6
Rhei Rhizoma	1,000	37.8±2.43*	15.2
Control	-	38.2±1.96	-
Myrrha	1,000	34.4±1.50	9.9
Caryophylli Cortex	1,000	26.8±1.39*	29.8
Asiasari Radix	1,000	15.2±1.28***	60.2
Aconiti Ciliare Tuber	100	23.4±2.36**	38.7
Glycyrrhizae Radix	1,000	32.4±1.83	15.2
Zingiberis Rhizoma	1,000	30.6±2.93**	19.9
Chaenomelis Fructus	1,000	25.8±0.80**	32.5
Moutan Cortex Radicis	1,000	27.2±1.43**	28.8
Paeoniae Radix	1,000	29.6±1.75**	22.5
Sinapis Semen	1,000	22.4±1.08**	41.4
Aconiti Radix	1,000	26.0±0.90***	31.9
Piper Longi Fructus	1,000	31.4±1.36*	17.8
Gardeniae Fructus	1,000	19.6±0.93***	48.7
Vespaee Nidus	1,000	26.6±1.69	30.4
Bufonis Venenum	100	13.2±0.80***	65.4
Magnoliae Cortex	1,000	18.4±1.16***	51.8
Control	-	27.2±0.73	-
Arisaematis Rhizoma	1,000	20.8±0.56**	23.5
Angelicae Gigantis Radix	1,000	15.4±1.03**	43.4
Persicae Semen	1,000	18.8±1.96**	30.9
Scolopendrae Corpus	1,000	17.2±1.66**	36.8
Evodiae Fructus	1,000	14.2±0.97**	47.8
Control	-	33.6±2.20	-
Lumbricus	-	27.2±1.36	19.0
Cnidii Rhizoma	1,000	25.4±0.87**	24.4
Trichosanthis Radix	1,000	27.8±1.94	17.3
Control	-	46.2±2.63	-
Menthae Folium	1,000	42.2±1.89	8.7
Anemarrhenae Rhizoma	1,000	22.4±1.35***	51.5
Ephedrae Herba	250	11.0±1.17***	76.2
Carthami Flos	1,000	30.0±1.73**	35.1
Cinnamomi Ramulus	1,000	27.0±1.47***	41.6
Piperis Nigri Fructus	500	19.2±1.54***	58.4
Aminopyrine	100	10.4±3.08***	77.5

Each value is represented as mean ± S.E. of 5 mice.

Each inhibition values is % of protection that is calculated as 100(values of control - values of sample)/values of control.

: Statistically significance different from control (:p<0.05, **:p<0.01 and ***:p<0.001)

Table IV. Inhibitory effect of herbal medicines on increase vascular permeability induced by 0.5% histamine in mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Leakage of dye ($\mu\text{g}/\text{mouse}$)	Inhibition (%)
Normal	-	35.3 \pm 2.43	-
Control	-	105.1 \pm 5.26 ^{###}	-
Sigesbeckiae Herba	1,000	74.3 \pm 4.38 ^{**}	44.2
Caryophylli Cortex	1,000	92.5 \pm 4.10	18.1
Asiasari Radix	1,000	70.7 \pm 6.83 ^{**}	49.3
Chaenomelis Fructus	1,000	65.3 \pm 3.51 ^{**}	57.0
Moutan Cortex Radicis	1,000	88.0 \pm 9.12	24.5
Bufonis Venenum	100	89.1 \pm 8.88	22.9
Evodiae Fructus	1,000	73.9 \pm 6.30 ^{**}	44.7
Normal	-	37.4 \pm 4.93	-
Control	-	74.4 \pm 6.51 ^{##}	-
Glycyrrhizae Herba	1,000	70.5 \pm 7.75	10.6
Capsici Fructus	1,000	69.6 \pm 5.77	13.1
Ephedrae Herba	250	58.1 \pm 5.74	44.0
Anemarrhenae Rhizoma	1,000	50.9 \pm 6.90 ^{**}	63.5
Piperis Longi Fructus	1,000	45.5 \pm 1.65 ^{**}	78.1
Carthami Flos	1,000	51.9 \pm 5.82 [*]	60.7
Piperis Nigri Fructus	500	39.8 \pm 3.91 ^{**}	93.4
Vespae Nidus	1,000	46.5 \pm 2.89 ^{**}	75.5
Normal	-	43.1 \pm 4.82	-
Control	-	88.7 \pm 8.48 ^{##}	-
Gardeniae Fructus	1,000	65.5 \pm 8.55 [*]	50.8
Nelumbinis Semen	1,000	60.3 \pm 4.80 ^{**}	62.2
Scolopendrae Corpus	1,000	67.0 \pm 6.97	47.6
Aconiti Cillare Tuber	100	78.4 \pm 4.62	22.7
Normal	-	52.7 \pm 6.11	-
Control	-	215.0 \pm 22.83 ^{###}	-
Rhei Rhizoma	1,000	160.3 \pm 14.73	33.6
Sinapis Semen	1,000	166.8 \pm 14.38	29.7
Clematidis Radix	1,000	175.2 \pm 15.24	24.5
Persicae Semen	1,000	163.8 \pm 13.84	31.5
Magnoliae Cortex	1,000	173.5 \pm 6.09 ^{**}	25.6
Prunellae Herba	1,000	169.6 \pm 7.78 ^{***}	30.0
Angelica Gigantis Radix	1,000	172.4 \pm 4.20 ^{**}	26.2
Diclofenac-Na	100	118.2 \pm 4.19 ^{***}	59.6

Each value is represented as mean \pm S.E of 6 mice.

Each inhibition values is % of protection that is calculated as 100(values of control - values of sample)/(values of control - value of normal).

: Statistically significance different from normal (##:p<0.01 and ###:p<0.001)

* : Statistically significance different from control (*:p<0.05, **:p<0.01 and ***:p<0.001)

억제작용을 평가할 약재로 감초, 고추, 마황, 목과, 목단피, 백개자, 섬수, 세신, 연자육, 오공, 오수유, 정향피, 지모, 초오, 치자, 필발, 하고초, 홍화, 호초, 희침, 노봉방, 계지, 후박을 선정하였다.

시료에 의한 혈관투과성 항진억제 효과의 평가를 하기 위한 투여용량은 초산법에 의한 진통효과와 동일한 용량으로 하여 시료의 혈관투과성 항진 억제효과를 Table IV에 나타내었다.

시료의 항염증 효과는 복강으로 유출된 색소량과 생리식염수만을 투여한 대조군 및 histamine 비처리 정상군으로부터 시료의 색소누출 억제효과를 산출하여 평가하였다. 그 결과 histamine 처리 대조군은 비처리 정상군에 비하여 유의하게 색소 누출량의 증가가 인정되었고, 전반적으로 대조군의 색소 누출량은 투여한 pontamine sky blue 색소량의 약 2~3% 정도 복강으로 누출됨을 알 수 있었다. 그리고, 투여한 한약재 중에서 필발 78.1%, 호초 93.4%, 노봉방 75.5%의 유의한 억제효과가 인정되었으며 이는 양성 대조약물 diclofenac-Na의 억제효과 59.6% 보다 강한 혈관투과성 항진 억제효과가 인정되었다. 그리고, 목과 57.0%, 지모 63.5%, 홍화 60.7%, 연자육 62.2%, 치자 50.8%의 색소누출 억제효과를 나타내어 각각 대조군에 비하여 유의한 혈관투과성 항진 억제효과를 관찰할 수 있었고, 이 이외에 회침 44.2%, 세신 49.3%, 오수유 44.7%, 마황 44.0%, 오공 47.6%의 색소누출 억제효과를 보여 유의한 혈관투과성 항진 억제효과가 인정되었다.

이상의 실험결과 hyaluronidase 저해활성, trypsin 저해활성 및 albumin 열변성 저해활성을 조합하여 평가한 바 두 factor 이상 모두 활성이 강하게 나타나는 것을 우선 *in vivo* 시험시 사용할 검체로 선정하여 평가한 바 감초, 건강, 고추, 당귀, 대황, 도인, 마황, 목과, 목단피, 몰약, 박하, 백개자, 백작약, 섬수, 세신, 연자육, 오공, 오수유, 위령선, 정향피, 지모, 천화분, 초오, 치자, 필발, 하고초, 홍화, 황백, 호초, 회침, 노봉방, 계지, 후박의 한약재가 해당되었다.

In vitro 실험결과와 *in vivo* 실험결과가 반드시 일치하지 않기 때문에 2차 screening 시험으로 *in vivo* 에서 초산법에 의한 진통효과와 histamine 처리로 유발된 혈관투과성 항진에 대한 저해활성을 지표로 하였다. 그 결과 진통 및 혈관투과성 항진 억제효과 모두 강한 활성을 보인 한약재로는 마황, 목과, 세신, 연자육, 오공, 오수유, 지모, 치자, 필발, 홍화, 호초, 회침, 노봉방 등이었다.

결 론

한방약물로부터 한방진통소염을 개발하기 위한 기초적 연구의 일환으로 임상에서 또는 문헌에서 진통소염의 목적으로 사용하는 처방이나 본초학적 또는 생약학적 측면에서 진통소염 효과가 있는 것으로 밝혀

진 한약들을 문헌적으로 조사하여 선정된 한약재에 대해서 *in vitro*에서 hyaluronidase 저해활성, trypsin 저해활성 및 albumin 열변성 저해활성을 지표로 하여 일차 screening하였고, 이어서 선정된 한약재를 *in vivo*에서 초산법에 의한 진통효과와 histamine 처리로 유발된 혈관투과성 항진에 대한 저해효과를 평가하였다. 그 결과 마황, 목과, 세신, 개자, 오수유, 지모, 섬수, 치자, 필발, 홍화, 호초, 회침, 후박 등에서 유의한 진통 및 항염증 활성이 인정되었다. 앞으로 이들 한약재에 임상에서 활용가능성이 높은 약재들을 추가하고 방제학적 처방구성 원칙에 근거하여 새로운 방제를 구성하여 기초 약물학적으로 진통 및 항염증 효과와 안전성을 평가하여 유용성이 높은 한방 진통소염제를 개발하고자 한다.

사 사

본 연구는 경희대학교 비전 2000 Project 통증 및 신경의학 연구지원비에 의하여 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 김현제, 홍원식(1983) 한의학사전, p. 652, 성보사, 서울.
2. 婁多峰(1983) 痺證治驗, p. 1, 河南科學技術出版社, 河南.
3. 上海中醫學院 編(1982) 中醫內科學, p. 200, 常務印刷館, 香港.
4. 강인수(1990) 痺證治療의 용약에 관한 소고. 대한한의학회지 11(6): 245-252.
5. 임형호, 정석희, 이종수, 김성수, 신현대(1991) 요통의 외용약에 관한 문헌적 고찰. 한의학회지 12(2): 162-174.
6. 박광식, 김환수, 안재석, 김택수, 박병욱, 광의중, 한창균, 조용백, 김기협(1995) 항염작용을 갖는 신규 생약복합제 SK1306X의 분리 및 항염작용. 약학회지 39(4): 385-394.
7. Cho, S., Takahashi, M., Toita, S. and Cyong, J.-C. (1982) Suppression of adjuvant arthritis on rat by oriental herbs. *Shoyakugaku Zasshi* 36(1): 78-81.
8. Hirai, Y., Takase, H., Kobayashi, H., Yamamoto, M., Fujioka, N., Kohda, H., Yamasaki, K., Yasuhara, T. and Nakajima, T. (1983) Screening test for antiinflammatory crude drugs based on inhibition effect of histamine release from mast cell. *Shoyakugaku Zasshi* 37(4): 374-380.

9. 문태철, 정규찬, 손건호, 김현표, 강삼식, 장현욱 (1998) 천연물로부터 사이클로옥시게나제-2 저해제 검색. 약학회지 **42**(2): 214-219.
10. 문태철, 정광원, 정규찬, 손건호, 김현표, 강삼식, 장현욱(1997) 천연물로부터 염증성 포스포리파제 A2 저해제 검색. 약학회지 **41**(5): 565-570.
11. 윤혜숙, 장일무 편저(1993) 전통약물로부터 신약개발 연구법(표준엑스와 표준분획 제조법). p. 9, 서울대학교 천연물과학연구소, 서울.
12. Anonymous (1974) *Methods of Enzymatic Analysis* (Bergmeyer, H. U., Ed.) p. 944, Verlag Chemie Weinheim, Academic Press, Inc., New York.
13. Kim, Y. S., Noh, Y. K., Lee, G. I., Kim, Y. K., Lee, K. S. and Min, K. R. (1995) Inhibitory effects of herbal medicines on hyaluronidase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**(3): 265-272.
14. Anson, M. L. (1938) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **22**: 79-89.
15. Tsutomu, U., Hiroshi, K. and Zen-ichi, O. (1989) Antiinflammatory effect of extract from Phellodendri cortex. *J. Med. Pharma. Society for Wakan-Yaku* **6**: 158-164.
16. Han, B. H., Chi, H. J., Han, Y. N. and Ryu, K. S. (1972) Screening on the antiinflammatory crude drugs. *Korean J. Pharmacogn.* **3**: 205-209.
17. Whittle B. A. (1964) The use of changes in capillary permeability to distinguish between narcotic and analgesic. *Brith. J. Paharmacol.* **22**: 246-253.
18. Judah, J. D. and Willoughby, D. A. (1962) : A quantitative method for the study of capillary permeability : Extraction and determination of trypan blue in tissue. *J. Path. Bact.* **83**: 567-572.
19. Goldberg, R. L., Huff, J. P., Lenz, M. E., Glickman, P., Katz, R. and Thonar, E. J.-M. A. (1991) Elevated plasma levels of hyaluronate in patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arth. Rheum.* **34**: 799-807.
20. 정세준, 김나영, 안년형, 김윤철(1997) Microplate 방법을 이용한 hyaluronidase 저해활성 검색. 생약학회지 **28**(3): 131-137.
21. Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M. and Satoh, T. (1997) Evaluation of Propolis. I. Evaluation of brazilian and Chinese Propolis by enzymatic and physico-chemical methods. *Bio. Pharm. Bull.* **20**(5): 496-501.
22. Nakagawa, H., Watanabe, K. and Shuto, K. (1983) Antiinflammatory effect of proteinase inhibitors suppress on carrageenin-induced inflammation in rats. *Biochem. Pharmacol.* **32**: 1191-1195.
23. Nakagawa, H., Shuto, K., Isaji, M. and Watanabe, K. (1981) Proteinase inhibitors suppress the formation of granulation tissue in the carrageenin-induced inflammation. *J. Pharmacocobio. Dyn.* **4**: 429-435.
24. Mizushima, Y. (1965) Simple screening test for anti-rheumatic drugs. *Lancet* **1**: 169-170.
25. Mizushima, Y. (1966) Screening test for antirheumatic drugs. *Lancet* **2**: 443-443.
26. Koster, R., Anderson, M. and Debeer, E. J. (1959) Acetic acid for analgesic screening, *Federa. Proc. Pharmacol.* **18**: 412-412.
27. Collier, H. O. J., Dinneen, L. C., Johnson, C. A. and Schneider, C. (1968) The abdominal contraction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse, *Brit. J. Pharmac. Chemoth.* **32**: 295-299.
28. 津田恭介, 野上壽(1971) 薬效の評価(1), p. 1067, 東京, 地人書館.
29. 齊藤 洋, 野村靖幸 編著(1989) 醫藥品の開発(第9卷) 醫藥品の探索 III. p. 45, 東京, 廣川書店.
30. 家畜藥理學教育研究會 編(1977) 藥理學實驗, p. 124, 文永堂出版株式會社, 東京.
31. Winter C. A. and Flataker L. (1965) Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaws of rats and response to analgesic drugs, *J. Pharmacol. Exptl. Ther.* **150**: 164-171.
32. Fujiyoshi, T., Ikeda, K., Saito, M., Yamaura, T., Iida, H., Maeda, E., Kase, N. and Uematsu, T. (1986) The antiinflammatory effect of EB-382. *Folia Pharmacol. Japon* **87**: 379-395.

(2001년 9월 8일 접수)