

## 팔배나무의 진통 효과

김봉석 · 윤선화 · 신윤철 · 강보혜 · 박승주 · 양우인 · 이세연 · 차동석 · 전 훈\*

우석대학교 약학대학

### Anti-nociceptive Effects of *Sorbus alnifolia*

Bong Seok Kim, Sun Hwa Yun, Youn Chel Shin, Bo Hye Kang, Seung Ju Park, Woo In Yang, Se Youn Lee, Dong Seok Cha, and Hoon Jeon\*

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonbuk 55338, South Korea

**Abstract** – In this study, we evaluated the anti-nociceptive activities of *Sorbus alnifolia*. To investigate the anti-nociceptive properties of the methanolic extract of *Sorbus alnifolia* (MSA), we conducted several tests using various experimental mouse pain models. Herein, MSA significantly delayed the latency time and writhing motion in the hotplate test and acetic acid test, respectively. These result indicated that MSA has an ability to manage both peripheral and central nociception. We could further confirm the analgesic effects of MSA by performing formalin test. In combination test using naloxone, a non-selective opioid receptor antagonist, analgesic activity of MSA was partly antagonized by naloxone, but not completely, indicating that the MSA acts as a partial opioid receptor agonist. Out results suggest that the *S. alnifolia* may be possibly used as valuable anti-nociceptive agent.

**Keywords** – *Sorbus alnifolia*, Anti-nociception, Opioid receptor

통증은 삶의 질을 저하하는 일반적인 원인 가운데 하나다. 국제 통증 학회의 정의에 따르면 통증이란 실제적인 또는 잠재적인 조직 손상에 따라 수반되는 혹은 그러한 손상의 관점에서 표현되는 불쾌한 감각적, 정서적 경험을 의미한다.<sup>1)</sup> 통증의 발생 원인으로는 외상 및 기타 물리적 요인에 의한 신경세포 손상, 면역반응 및 기관이나 조직에 도달하는 혈류의 이상 등이 있다. 하지만 인체의 이상 상태를 알리는 통증은 조직을 훼손할 수 있는 위협을 감지하여 2차 손상을 방지하거나 그 정도를 최소화하는 생존에 필수적인 방어기전이다.<sup>2)</sup> 그러나 통증이 지나치거나 손상된 조직의 치료가 완료되었음에도 지속하는 경우 또는 암과 같은 질병으로 기인하거나 원인불명의 만성 통증이 발생하는 경우, 인간의 삶의 질을 심각하게 떨어뜨릴 수 있으므로 통증을 효과적으로 조절할 필요가 있다.

현재 진통제로서 항염증제와 마약성 진통제가 주로 사용되고 있지만, 아스피린을 포함한 비스테로이드성 소염제(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)는 상부 위장관의

점막 염증과 출혈, 그에 따른 천공을 일으키는 부작용이 있음이 보고 된 바 있으며<sup>3)</sup> opioid계 진통제인 morphine은 중독성과 의존성을 비롯한 여러 가지 중추신경계통의 이상 상태를 일으킬 수 있다.<sup>4)</sup> 따라서 상대적으로 부작용이 적은 진통제 개발에 관한 관심이 높아졌으며, 최근 천연물로부터 비롯된 화합물이 가지고 있는 가능성에 관한 활발한 연구가 진행 중이다. 현재 수많은 천연물로부터 뛰어난 진통 효능이 보고되고 있다.<sup>5)</sup>

본 실험에 사용된 천연물인 팔배나무는 장미과에 속하는 식물로서 현재까지 그 성분과 약리효과에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 그러나 같은 속 식물인 마가목은 여러 연구를 통해 다양한 약리작용이 밝혀졌고 또한 한방에서도 이를 약재로 사용해 기침, 고혈압, 관절통 등을 효과적으로 치료해왔다. 팔배나무의 보고된 약리작용으로는 항산화 능력과<sup>6)</sup> 메탄올 추출물의 도파민 신경보호 효과 등이 있다.<sup>7)</sup> 앞선 연구들에서 통증 조절 과정에 자유 라디칼이 관여한다는 보고가 있었으며,<sup>8-12)</sup> 신경병성 통증 및 염증성 통증의 병태 생리의 일부 메커니즘이 활성 산소종(ROS)의 과잉 생산 때문이라고 주장한다. 따라서 항산화제로 효과적이고 새로운 진통제를 개발하는 것에 대한 가능성을 열어준다.<sup>12,13)</sup>

\*교신저자(E-mail): jeonh@woosuk.ac.kr  
(Tel): +82-63-290-1577

그러나 현재까지 팔배나무가 통증에 미치는 영향은 보고된 바 없으며, 이에 본 연구에서는 팔배나무의 항산화 효능과 더불어 진통 효능을 밝히기 위한 연구를 진행하였다. 본 연구에서는 먼저 ICR mouse를 이용한 tail immersion test와 hot-plate test를 통해 중추성 통증 억제능을 검증하였고 acetic acid induced writhing test를 이용해 말초성 통증 억제능을 확인하였다. 아울러 formalin test를 통해 중추성과 말초성 통증 모두를 억제함을 다시 한 번 확인함과 동시에 opioid receptor antagonist인 naloxone을 전처리하여 팔배나무 메탄올 추출물(methanolic extract of *Sorbus alnifolia*, MSA)의 진통 효과와 opioid receptor의 관련성을 확인하였다.

## 재료 및 방법

**재료** - 실험에 사용된 팔배나무(*Sorbus alnifolia*)는 2013년 4월 강원 원주 소재의 강원약초에서 구매하였다. 약재는 건조하여 (WH 086) 우석대학교 약학대학 한약학과에 보관되었다. 건조된 줄기 및 가지 600 g은 6000 mL의 100% methanol을 용매로 초음파 추출기를 이용해 50°C에서 추출되었다. 그 뒤 methanol 추출물은 회전식 농축기를 이용하여 28.1 g(수율: 4.68%)으로 농축되었으며 이 시료는 건조된 후 -20°C에서 보관되었다.

**실험동물** - ICR mice(5주령, 수컷)는 한국 대전 소재의 다물 사이언스(Daejeon, Korea)에서 구입하였다. 실험동물은 일정 온도(22±1°C), 자연광 상태에서 사육되었으며 일정한 양의 사료와 식수를 주기적으로 공급하였다. 본 연구에서 수행된 진통 실험은 International Association for the study of pain에서 규정하는 동물실험 윤리(승인번호 WS2017-2)를 준수하였다.<sup>14)</sup> 실험동물은 8마리에서 12마리가 무작위로 선택되어 구획되었다. 각각의 실험에서 MSA는 증류수를 용매로 하여 구강을 통해 투여되었고 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 양성대조군으로 사용된 약물 중 tramadol(15 mg/kg)은 복강 주사하였고, indomethacin(5 mg/kg)은 경구투여 하였다.

**급성 독성 실험** - 실험동물에 MSA를 과량 투여할 때 유의적인 독성을 나타내는지 확인하기 위하여 급성 독성 실험을 수행하였다. 실험동물을 음성대조군과 실험군으로 나눈 후 실험군에는 과량의 MSA를 투여하였으며, 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다.<sup>15)</sup> 그 후 24시간 동안 실험동물의 변화와 생존도를 측정하였다.

**Tail-immersion Test** - 본 연구에서 tail-immersion test는 Wang 등의 방법을 약간 수정하여 수행하였다.<sup>16)</sup> ICR mouse의 꼬리 절반을 50±0.2°C의 온도가 유지되는 water bath안에 담근 후 꼬리를 다시 들어올리는 시간을 측정하였다. 측정시간은 MSA(100, 200 mg/kg)와 tramadol(15 mg/kg) 투여 후 0, 30, 60, 90, 120분이 지난 뒤에 시행되었다. 또한 조

직 손상을 피하기 위해 측정시간은 20초를 최대로 하였다.

$$\text{Analgesic activity (\%)} = \frac{T_b - T_a}{T_a} \times 100$$

$T_a$  : 음성대조군의 지연 시간

$T_b$  : 약물투여군의 지연 시간

**Hot-plate test** - Hot-plate test는 ICR mouse를 각 군으로 구획한 후, hot-plate를 55±1°C를 유지시킨 상태에서 실험동물을 그 위에 올려놓은 뒤 통증 반응(앞발 핏기, 뒤로 가기, 제자리 뛰기)을 보일 때까지의 시간을 측정하였다.<sup>17)</sup> 시간 측정은 MSA(100, 200 mg/kg)와 tramadol(15 mg/kg)을 투여 후 0, 30, 60, 90, 120분이 지난 뒤에 시행되었다. 또한 조직 손상을 피하기 위해 측정시간은 30초를 최대로 하였다.

$$\text{Analgesic activity (\%)} = \frac{T_b - T_a}{T_a} \times 100$$

$T_a$  : 초기 반응 시간

$T_b$  : 실험군 반응 시간

**Acetic Acid-induced Writhing Test** - ICR mouse의 복강에 생리식염수를 용매로 희석한 acetic acid(0.8%)를 주사한 후 나타나는 writhing motion의 횟수를 투여 후 5분 뒤부터 20분간 측정하였다. MSA(100, 200 mg/kg)와 양성대조군으로 사용된 indomethacin(5 mg/kg)은 증류수를 용매로 하여 구강을 통해 투여되었고 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 또한 양성대조군 및 MSA는 모두 acetic acid를 복강 주사하기 60분 전에 투여되었다.

$$\text{Analgesic activity (\%)} = \frac{N_b - N_a}{N_a} \times 100$$

$N_a$  : 음성대조군 반응 횟수

$N_b$  : 실험군 반응 횟수

**Formalin Test** - Formalin test는 Santos 등의 실험 방법에서 약간의 수정을 가한 후 수행되었다.<sup>18)</sup> 생리식염수를 용매로 한 formalin(1.5%, 20 µL)을 ICR mouse의 족부에 투여하였을 때 실험동물은 주사부위를 핏는 행동을 보인다. 이러한 통증 반응을 formalin 주사 직후 5분간(first phase, 신경성) 또한 주사 후 25-40분간(second phase, 염증성) 2회 측정하였다. MSA(100, 200 mg/kg)는 증류수를 용매로 하여 formalin 투여 60분 전에 구강을 통해 투여되었고 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 양성대조군으로 사용된 약물 중 tramadol(15 mg/kg)은 formalin 투여 30분 전에 복강주사 하였고, indomethacin(5 mg/kg)은 formalin 투여 60분 전 경구투여 하였다. 또한 opioid 수용체와의 연

관성을 알아보기 위해 전 저리한 naloxone(5 mg/kg)은 각각의 약물 처리 15분 전에 복강주사로 투여되었다.

$$\text{Analgesic activity (\%)} = \frac{T_b - T_a}{T_a} \times 100$$

$T_a$  : 초기 반응 시간

$T_b$  : 실험군 반응 시간

**통계 분석** - 통계 자료의 값은 평균값 ± 표준오차(mean ± S.E.M.)으로 표시하였다. 유의성 검증은 one-way ANOVA 분석 방법으로 결정하였으며, 사후 검정으로 Duncan test를 실시하였다. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  수준에서 각각 유의성을 검증하였다.

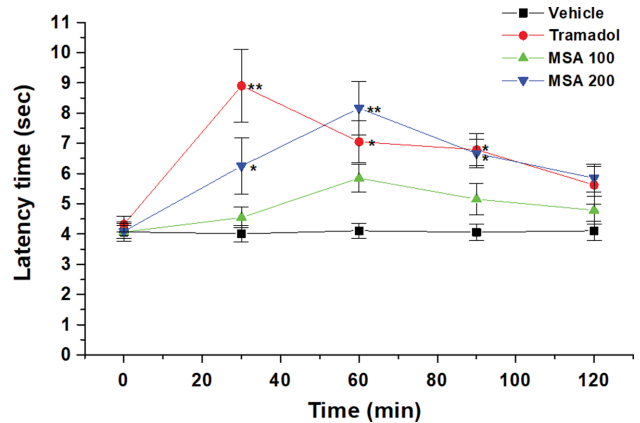
### 결과 및 고찰

최근 연구에 따르면 ROS는 만성 통증, 특히 신경병성 통증 및 염증성 통증과 관련이 있으며, 특히 중추 감각과 밀접한 관련이 있다고 보고되었다.<sup>12,13</sup> Tirilazad 및 TEMPOL과 같은 자유 라디칼 제거제는 신경병성 통증 모델인 만성 수축 손상(Chronic Constriction Injury) 동물의 열자극성 통증을 완화할 수 있다.<sup>8,9</sup> 또한 자유 라디칼은 주로 opioid receptor보다는 통증의 신호전달 시스템에 영향을 미침으로써 통증을 조절하며,<sup>19</sup> ROS 제거제의 진신 투여는 신경병성 통증 모델에서 발생하는 기계적 역치의 현저한 감소를 개선한다고 보고되어있다.<sup>12</sup> 본 연구에서는 앞선 연구에서 밝혀진 팔배나무의 항산화 능력과<sup>6</sup> mitochondria complex I을 저해하여 ROS를 유발하는 MPP<sup>+</sup>에 대한 신경보호 효과를<sup>7</sup> 바탕으로 팔배나무의 진통 효과를 조사하였다.

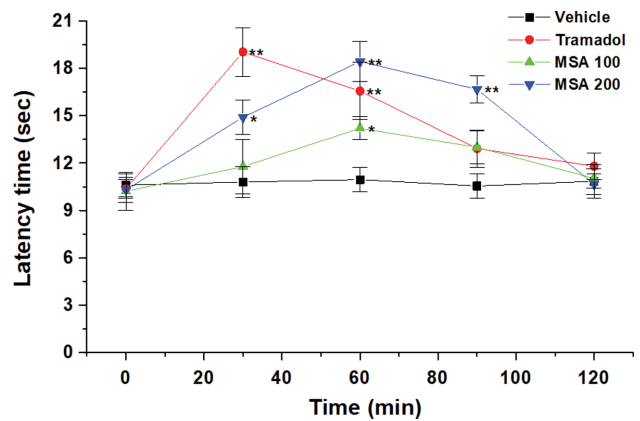
본 연구에서 MSA의 진통 실험은 기전 및 전달경로를 기준으로 중추성 통증과 말초성 통증으로 구분하여 진행하였다. 먼저 중추성 통증은 대뇌 피질과 척수가 직접 통증 자극의 주체가 되며 기계적, 열자극에 의한 통증이다. 특히 중추신경계에는 opioid receptor가 분포하여 자극의 전달에 큰 영향을 미친다. 반면 말초성 통증은 특정 신경 섬유에 인접해 있는 조직에 부분적 손상이 일어남으로써 생김어 염증성, 화학적 자극으로 인한 통증이다.<sup>20</sup>

모든 진통 실험에 앞서 MSA의 급성 독성을 확인하기 위해 다양한 농도(2000 mg/kg 이상)의 MSA를 ICR mouse에 경구 투여하였다. 24시간 동안 관찰한 결과, 음성대조군과 마찬가지로 실험군에서는 이상 행동이 발견되지 않았으며, 빈사 혹은 사망 상태의 실험동물 또한 발견되지 않았다. 따라서 실험동물에 2000 mg/kg 농도 이하의 MSA를 투여할 경우 안전함을 나타낸다.

MSA의 중추성 통증 억제능을 확인하기 위해 열 자극에 의한 통증 실험인 tail immersion test, hot-plate test을 실행

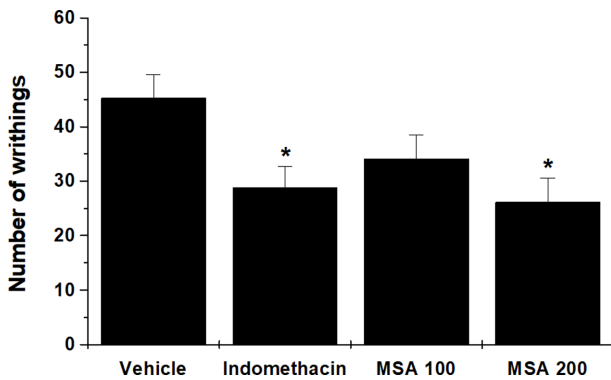


**Fig. 1.** Analgesic activity of MSA on tail immersion test. The mice were treated with tramadol (15 mg/kg), MSA (100, 200 mg/kg) or distilled water. Values expressed as mean ± S.E.M. and units are in seconds (n = 10-12). Differences between groups were statistically analysed by one-way ANOVA. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  compared to vehicle-treated group.



**Fig. 2.** Analgesic activity of MSA on Hot-plate test. The mice were treated with tramadol (15 mg/kg), MSA (100, 200 mg/kg), or distilled water. Values expressed as mean ± S.E.M. and units are in seconds (n = 10-12). Differences between groups were statistically analysed by one-way ANOVA. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  compared to vehicle-treated group.

하였다. 먼저 수행한 tail immersion test에서 비교 대조군으로 사용된 tramadol은 약물 투여 30분 후 가장 높은 진통 효과(122.22%)를 보인 뒤 점차 감소했으며 이는 morphine과 같은 opioid계 약물과 유사한 경향을 보였다. 반면 Fig. 1에서 확인할 수 있듯이 MSA는 저농도(100 mg/kg)와 고농도(200 mg/kg) 모두 약물 투여 60분 뒤에 가장 좋은 효과를 보였다(42.34%, 98.60%). MSA는 250 mg~2000 mg/kg에서 200 mg/kg에서의 진통 효과와 유사한 효과를 나타냈으며, 100 mg/kg 이하에서는 유의적인 효과가 확인되지 않았다. Hot-plate test를 통한 재검정에서도 tramadol은 약물 투여



**Fig. 3.** Analgesic activity of MSA on Acetic acid-induced writhing test. The mice were treated with indomethacin (5 mg/kg), MSA (100, 200 mg/kg) or distilled water. Values expressed as mean ± S.E.M. (n = 8-12). Differences between groups were statistically analysed by one-way ANOVA. \**p*<0.05 compared to vehicle-treated group.

30분 후 가장 높은 진통 효과(76.31%)를 보였으며 MSA는 저농도와 고농도의 약물 투여 60분 뒤에 가장 높은 효과를 보였다(25.11%, 68.26%)(Fig. 2). 두 약물의 최고 진통 효과가 나타나는 시간이 상이한 경우 두 가지로 설명할 수 있는데, 먼저 약물의 투여 방법이 복강투여와 경구투여로 다르기 때문이거나, 두 약물의 대사 과정의 차이에서 기인한 결과로 해석할 수 있다. 위의 결과로부터 MSA의 뛰어난 중추성 통증 억제능을 확인할 수 있으며, 이에 ROS 제거 능력이 중추신경계의 통증 신호전달에 관여하여 통증 억제에 기여한 것으로 유추할 수 있다.

말초성 통증에 대한 MSA의 진통 효과는 약물의 중추성과 말초성 통증 억제 효과를 검증할 때 사용되는 acetic acid-induced writhing test를 통해 확인되었다.<sup>21)</sup> Acetic acid-induced writhing test는 prostaglandins(PGs), 그중에서도 복

막 유동체 내의 PGE<sub>2</sub>의 증가와 밀접한 관련이 있으며,<sup>22)</sup> 그에 따라 염증성 통증에 주로 연관되어 있다.<sup>23)</sup> NSAID계 약물은 이러한 PG 합성을 효과적으로 저해시켜 말초성 통증을 억제하며, 본 실험에서 비교 대조군으로 사용된 indomethacin은 ICR mouse의 writhing motion을 뚜렷하게 감소시켰다(36.29%). 실험군은 MSA 고농도 투여군에서 높은 수준의 감소율(42.16%)을 보였다(Fig. 3).

Acetic acid-induced writhing test는 중추성 통증을 제외한 말초성 통증 억제능을 확인하기 어려우므로 추가로 formalin test를 수행하였다. 말초성 유해 자극원인 formalin을 피하주사하면 두 가지 통증 매커니즘을 통해 통증반응을 유도하게 된다.<sup>24)</sup> C 섬유를 통한 직접적인 자극에 의한 first phase의 반응은 신경성 통증 반응으로서 morphine과 같은 opioid 또는 그 유사체에 의해 저해될 수 있다.<sup>25)</sup> Second phase는 염증성 통증 반응으로서 말초 조직 내에서 prostaglandins, serotonin, histamine 등과 같은 염증 매개체의 영향을 받게 된다.<sup>24)</sup> 본 실험에서 비교 대조군으로 사용된 중추성 진통제인 tramadol은 first phase와 second phase에서 모두 뛰어난 진통 효과를 보였다(first phase: 53.78%, second phase: 55.31%). 반면 NSAIDs계열 약물인 indomethacin은 second phase에서만 진통 효과를 나타냈다(40.29%)(Table I). 앞선 연구에서 주로 중추신경계에 작용하는 약물은 formalin test의 두 phase에 모두 작용하는 반면, 말초신경계에 작용하는 스테로이드나 NSAIDs 계열 약물은 first phase에서의 진통 효과가 미미하다고 밝혀졌다.<sup>26)</sup> 이 실험에서 MSA는 first phase와 second phase에서 모두 실험동물의 반응을 효과적으로 저해했으며(first phase: 40.89%, second phase: 44.95%) 이는 MSA가 중추성 통증과 말초성 통증 모두를 억제함을 나타낸다(Table I). 특히 염증성 통증인 second phase에서의 진통 효과는 부분적으로 MSA의 항산화 효과에 기인한 결과로 유추할 수 있다. 이러한 결과를 통해 앞서 확인한 중

**Table I.** Analgesic activity of MSA on formalin test

Treatment	Dose (mg/kg)	Naloxone (5 mg/kg)	First Phase (0-5 min)		Second Phase (25-40 min)	
			Licking time (s)	Inhibition (%)	Licking time (s)	Inhibition (%)
Vehicle	-	-	114.92 ± 6.99	-	136.81 ± 15.81	-
Tramadol	15	-	53.11 ± 10.53**	53.78	61.13 ± 7.09**	55.31
		+	85.67 ± 6.96 <sup>#</sup>	30.67	104.34 ± 12.25 <sup>##</sup>	23.73
Indomethacin	5	-	109.50 ± 10.24	4.71	81.68 ± 9.54*	40.29
		+	114.53 ± 8.30	0.33	85.97 ± 10.42*	37.15
MSA	100	-	95.88 ± 13.30	19.03	105.8 ± 18.71*	22.67
	200	-	67.92 ± 13.13**	40.89	75.32 ± 16.32**	44.95
	200	+	92.34 ± 8.29 <sup>#</sup>	19.64	108.56 ± 16.54 <sup>#</sup>	20.65

The mice were treated with tramadol (15 mg/kg), indomethacin (5 mg/kg), MSA (100, 200 mg/kg) or distilled water. Values expressed as mean ± S.E.M. (n = 8-12). Naloxone (5 mg/kg) treatment was performed 15 min prior to drug administration. Differences between groups were statistically analysed by one-way ANOVA. \**p*<0.05, \*\*<0.01 compared to vehicle-treated group, while <sup>#</sup>*p*<0.05, <sup>##</sup>*p*<0.01 compared to naloxone-untreated group.

추성 통증 억제능 및 말초성 통증 억제 효과를 재검정할 수 있었다.

다음으로 이러한 MSA의 진통 효능이 opioid receptor와 관련이 있는지 알아보기 위하여 naloxone의 전처리를 실행하였다. 먼저 tramadol은 naloxone의 전처리 후 진통 효과가 감소하였으나 약간의 진통 효능이 남아있었다. 이는 tramadol이 부분적으로 opioid receptor에 영향을 줌과 동시에 다른 기전으로도 진통 효능을 나타냄을 의미한다.<sup>27)</sup> 반면 NSAIDs계열 진통소염제인 indomethacin은 second phase에서 naloxone에 의한 진통 효능 감소를 관찰할 수 없었다. MSA는 naloxone의 전처리 후 first phase와 second phase에서 모두 진통 효능이 절반으로 감소하였다(Table I). 이러한 결과로 MSA가 opioid receptor에 부분적으로 관여하여 중추성 및 말초성 통증을 억제함을 확인하였다.

이상의 결과로 MSA가 중추성 통증과 말초성 통증 모두를 억제하는 데 효과적임을 확인하였다. 또한, MSA가 opioid receptor에 부분적으로 영향을 미쳐 진통 효과를 나타냄을 확인하였다. 그러나 추가적인 연구를 통해 MSA의 보다 구체적인 약리 기전을 밝히려는 노력이 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

본 연구는 팔배나무 메탄올 추출물의 진통 효과에 대해 알아보았다. 진통 효과를 검증하기 위해 수행한 tail-immersion test와 hot-plate test를 통해 팔배나무의 중추성 통증 억제 능력을 확인하였으며, acetic acid-induced writhing test로부터 말초성 통증 억제 능력 또한 확인하였다. 더 나아가 formalin test로 팔배나무의 효과적인 중추성 및 말초성 통증 억제 능력을 재차 확인하였으며, naloxone의 전처리를 통해 팔배나무가 opioid receptor에 부분적으로 영향을 미쳐 진통 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이상의 결과로 본 연구에 사용된 팔배나무 추출물이 효과적인 진통 효과를 나타냄이 확인되었다.

## 인용문헌

- IASP (1979) The need of a taxonomy. *Pain* **6**: 247-252.
- Kim, H. J., Chung, W. C., Lee, K. M., Paik, C. N., Jung, S. H., Kim, J. D., Jung, S. H. and Kwak, J. W. (2009) Multiple gastrointestinal drug induced ulcers associated with aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs: a case report and review of the literature. *The Korean Journal of Gastrointestinal Endoscopy* **39**: 379-383.
- Musumba, C., Pritchard, D. M. and Pirmohamed, M. (2009) Review article: cellular and molecular mechanisms of NSAID-induced peptic ulcers. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* **30**: 517-531.
- Soledad, M. C., Hernando, A., Olga, M. and Daniel, B. C. (2004) Addition of ultralow dose naloxone to postoperative morphine PCA : unchanged analgesia and opioid requirement but decreased incidence of opioid side effects. *Pain* **107**: 41-46.
- Calixto, J. B., Beirith, A., Ferreira, J., Snatos, A. R., Filho, V. C. and Yunes, R. A. (2000) Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytotherapy Research* **14**: 401-418.
- Kim, M. B., Park, J. S. and Lim, S. B. (2010) Antioxidant activity and cell toxicity of pressurised liquid extracts from 20 selected plant species in Jeju, Korea. *Food Chemistry* **122**: 546-552.
- Cheon, S. M., Jang, I. S., Lee, M. H., Kim, D. K., Jeon, H. and Cha, D. S. (2017) *Sorbus alnifolia* protects dopaminergic neurodegeneration in *-Caenorhabditis elegans*. *Pharmaceutical Biology* **55**: 481-486.
- Tal, M. (1996) A novel antioxidant alleviates heat hyperalgesia in rats with an experimental painful peripheral neuropathy. *Neuroreport* **7**: 1382-1384
- Khalil, Z., Liu, T. and Helme R. D. (1999) Free radicals contribute to the reduction in peripheral vascular responses and the maintenance of thermal hyperalgesia in rats with chronic constriction injury. *Pain* **79**: 31-37.
- Fan, L., Fang, M., Dai, L. M., Chen, Z. W. and Song, B. W. (2003) Study on the mechanism of modulated effect of hydroxyl radical on pain. *Acta Universitatis Medicinalis Anhui (China)* **38**: 168-171.
- Fan, L., Zuo, X., Chen, Z.W., Fang, M., Dai, L. M. and Song, B. W. (2003) The role of hydroxyl radical in pain perception. *Chinese Journal of Pain Medicine* **9**: 23-27.
- Kim, H. K., Park, S. K., Zhou, J. L., Tagliatela, G., Chung, K., Coggeshall, R. E. and Chung, J. M. (2004) Reactive oxygen species (ROS) play an important role in a rat model of neuropathic pain. *Pain* **111**: 116-124.
- Kim, H. K., Kim, J. H., Gao, X., Zhou, J. L., Lee, I., Chung, K. and Chung, J. M. (2006) Analgesic effect of vitamin E is mediated by reducing central sensitization in neuropathic pain. *Pain* **122**: 53-62.
- Zimmermann, M. (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* **16**: 109-110.
- Bruce, R. D. (1985) An up-and-down procedure for acute toxicity testing. *Fundamental and Applied Toxicology* **5**: 151-157.
- Wang, Y. X., Gao, D., Pettus, M., Phillips, C. and Bowersox, S. S. (2000) Interactions of intrathecally administered ziconotide, a selective blocker of neuronal N-type voltage-sensitive calcium channels, with morphine on nociception in rats. *Pain* **84**: 271-281.
- Franzotti, E. M., Santos, C. V. F., Rodrigues, H. M. S. L., Mourão, R. H. V., Andrade, M. R. and Antonioli, A. R.

- (2000) Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L. (Malva-branca). *Journal of Ethnopharmacology* **72**: 273–277.
18. Santos, A. R. S. and Calixto, J. B. (1997) Further evidence for the involvement of tachykinin receptor subtypes in formalin and capsaicin models of pain in mice. *Neuropeptides* **31**: 381-389.
19. Mišik, V., Bezáková, L., Máleková, Ľ. and Košťálová D. (1995) Lipoxygenase inhibition and antioxidant properties of protoberine and aporphine alkaloids isolated from *Mahonia aquifolium*. *Planta Medica* **61**: 372-373.
20. Li, S. and Tator, C. H. (2000) Action of locally administered NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists in spinal cord injury. *Neurological Research* **22**: 171-180.
21. Fukawa, K., Kawano, O., Hibi, M., Misaki, N., Ohba, S. and Hatanaka, Y. (1980) A method for evaluating analgesic agents in rats. *Journal of Pharmacological Methods* **4**: 251-259.
22. Derardt, R., Jougney, S., Delevalcee, F. and Falhout, M. (1980) Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *European Journal of Pharmacology* **51**: 17-24.
23. Bley, K. R., Hunter, J. C., Eglen, R. M. and Smith, J. A. (1998) The role of IP prostanoid receptors in inflammatory pain. *Trends Pharmacology Sciences* **19**: 141-147.
24. Hunskaar, S., Fasmer, O. B. and Hole, K. (1985) Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *Journal of Neuroscience Methods* **14**: 69-76.
25. do Amaral, J. F., Silva, M. I. G., Neto, M. R. A., Neto, P. F. T., Moura, B. A., Melo, C. T. V., Araújo, F. L. O., DeSousa, D. P., Vasconcelos, P. F., Vasconcelos, S. M. and Sousa, F. C. F. (2007) Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. *Biological Pharmaceutical Bulletin* **30**: 1217-1220.
26. Vontagu, H., Abbah, J., Nagazal, I. E., Kunle, O. F., Chindo, B. A., Otsapa, P. B. and Gamaniel, K. S. (2004) Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Parinari polyandra* stem bark in rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology* **90**: 115-121.
27. Yalcin, I. and Aksu, F. (2005) Involvement of potassium channels and nitric oxide in tramadol antinociception. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **80**: 69-75.
- (2020. 8. 25 접수; 2020. 9. 15 심사; 2020. 9. 25 게재확정)