

Glycyrrhetic acid 誘導體의 消炎作用*

서울대학교 醫科大學 藥理學教室

<指導 吳 林 鎮 定 燮 教授>
副教授

景 禹 鉉

=Abstract=

Anti-inflammatory Action of Glycyrrhetic Acid Derivatives

Woo Hyun Kyung

Department of Pharmacology, College of Medicine Seoul National University

Seoul, Korea

(Directed by Prof. J. S. Oh and Ass. Prof. J. K. Lim)

In the present investigation, the anti-inflammatory activity of glycyrrhetic acid derivatives (abbreviated as AMKOA, 28-OMKOA, 30-OMKOA) was compared with hydrocortisone and sodium salicylate by a new anti-inflammatory test, utilizing the chorio-allantoic membrane of the chick embryo, which is outstandingly suitable for large scale screening of new compounds.

The anti-inflammatory activity of the glycyrrhetic acid derivatives was similar to hydrocortisone and superior to sodium salicylate.

緒 論

Glycyrrhetic acid 는 甘草內에 含有되어 있는 glycoside 의 一種인 glycyrrhizine 의 aglycone 으로 그 化學構造가 steroid 와 類似한 polyterpene compound 이다.

이러한 構造의 類似性 뿐만 아니라 glycyrrhetic acid 는 여러가지 steroid 樣 作用을 지니고 있음이 밝혀지고 있다.

即 Groen¹⁾ 등은 Addison 氏病 患者의 治療成績에 依據하여 glycyrrhetic acid 는 desoxycorticosterone 樣 作用을 招來한다고 報告했고 柴田等²⁾ 은 實驗의 腎炎에 對한 glycyrrhizine 製劑의 抑制效果가 cortisone 과 類似함을 報告했다. 한편 熊谷, 矢野³⁾ 등은 glycyrrhizine 이 急性 rheumatic fever 患者 및 Lupus erythematosus 患者에 對해 hydrocortisone 의 治療 效果를 增強 乃至 延長시킴을 報告한바 있고 Tangri⁴⁾ 는 glycyrrhetic acid 가 formalin 으로 誘發시킨 albino rat 의 關節炎에 對해 hydrocortis-

one 과 比等한 消炎作用을 招來하였다고 報告하였다.

한편 金⁵⁾ 은 이와 같은 glycyrrhetic acid 의 desoxycorticosterone 樣 作用 및 glycocorticoid 樣作用이 그 構造의 類似性에 起因됨을 參酌하여 이들 steroid hormone 과 더욱 恰似한 化合物을 合成하기 爲하여 glycyrrhetic acid 의 30 位置에 있는 carboxyl 基를 oxy methyl keto 基로 置換한 2-acetoxy 11-keto $\Delta^{12,13}$ 30 oxy methyl keto oleanenic acid (以下 30-OMKOA 로 記載) 및 acetoxy methyl 基로 置換한 2-acetoxy 11-keto $\Delta^{12,13}$ 30-acetoxymethyl keto oleanenic acid (以下 AMKOA 로 記載) 를 合成하고 또 oleanolic acid 의 28 位置에 있는 carboxyl 基를 oxymethyl keto 基로 置換한 2-acetoxy $\Delta^{12,13}$ 28-oxymethyl keto oleanenic acid (28-OMKOA) 를 合成하고 이들 誘導體의 藥理作用을 檢討한 結果 glycyrrhetic acid 誘導體의 steroid 樣作用이 增加되었음을 觀察報告한바 있다.

今般 著者는 金⁵⁾ 이 合成한 glycyrrhetic acid 誘導體들의 消炎作用을 D'Arcy⁶⁾ 등의 anti-inflammatory test 를 利用하여 比較 觀察코져 하였다.

*本論文의 要旨는 1967年 10月 21日 19次 大韓藥理學會學術大會에서 發表하였음.

最近 D'Arcy⁶⁾ 등에 의해 考察된 卵胚의 羊水膜을 使用하는 anti-inflammatory test 는 既往의 ultra violet erythema formation test,⁷⁾ rat paw edema formation test,⁸⁾ adjuvant induced arthritis test,⁹⁾ cotton pellet induced granuloma formation test¹⁰⁾ 및 granuloma power test,¹¹⁾ pleural exudate test,¹²⁾ capillary permeability test¹³⁾ 등에 比하여 操作方法이 簡便하고 少量의 藥物로도 test 가 可能하여 어떤 새로운 消炎藥에 對해 特定한 意圖의 精確한 實驗을 施行하기 前에 廣範圍하게 消炎作用의 有無 또는 程度를 檢査할 때에는 有利한 實驗方法으로 今般 著者가 施行한 glycyrrhetic acid 誘導體 및 hydrocortisone, sodium salicylate 의 消炎作用을 檢討한 實驗에서도 比較的 精確히 消炎作用의 強度가 反映되었기에 AMK-OA, 28-OMKOA, 30-OMKOA 의 消炎作用의 結果와 아울러 詳細한 實驗方法을 同時에 報告하고자 한다.

實驗材料 및 實驗方法

無菌 濾過紙 disc 를 卵胚의 羊水膜에 삼고 다시 4日間 孵卵시켜 局所的인 炎症反應을 일으켰다.

鷄卵:

레구혼의 受精卵을 충분한 濕度와 36~37°C 의 溫度에서 8日間 孵卵시켜 羊水膜을 發育시켰다.

Disc:

No 1 Whatman 濾過紙를 使用하여 No 8 cork borer 로 直徑 13 mm 되는 disc 를 만들었다. 이 disc 주위의 破片

들이 除去되도록 saline 으로 씻고 autoclave 로 滅菌消毒하였다.

實驗操作:

孵卵시킨 鷄卵을 candling 하여 羊水膜이 가장 잘 發育된 곳으로 큰 血管이 없는 場所를 찾아 그 곳에 한번 이 약 20 mm 가 되는 正三角形을 그리고 dental drill 을 使用하여 이 선을 따라 卵殼을 갈아 놓은 다음 이 三角形의 一角에 다시 일변 5 mm 의 작은 三角形을 그려 갈았다. 空氣주머니쪽에 작은 구멍을 만들고 paraffin-vaseline 混合物을 갈아낸 卵殼에 녹여 발라 卵殼의 조각이 羊水膜위로 떨어지지 않도록 하였다. 滅菌操作下에 Hagedorn 氏 바늘을 작은 三角形의 한쪽 모서리 아래로 베어 낸 후 노출된 殼膜위에 滅菌된 蒸溜水 한 방울을 滴下하고 Hagedorn 氏 바늘로 殼膜을 눌러 작은 틈을 만들었다. 빨판을 使用하여 空氣주머니 쪽의 구멍을 통해 공기를 빨아내어 殼膜과 羊水膜을 分離시킨 다음 큰 三角形의 卵殼과 殼膜을 떼어 내어 羊水膜을 露出시켰다. 無菌濾紙 disc 를 羊水膜위에 올려 놓고 disc 와 잘 接觸되도록 주의하여 누른 후 sellotape 으로 卵殼을 代身하여 구멍을 막고 空氣주머니 쪽의 작은 구멍은 paraffin-vaseline wax 를 발라 막았다(Fig. 1).

이와 같은 扶植操作이 끝나면 鷄卵을 다시 4日間 孵卵시킨후 卵殼의 長徑을 따라 잘라낸 後 羊水膜을 卵殼에서 벗겨내고 saline 에 담구어 disc 와 그 밑에 形成된 肉牙組織을 (Fig. 2) 切取하여 55°C 의 溫度에서 12時間 乾燥시켜 torsion balance 로 무게를 단 後 disc 의 무게를 除하여 肉牙組織의 무게를 산출하였다.

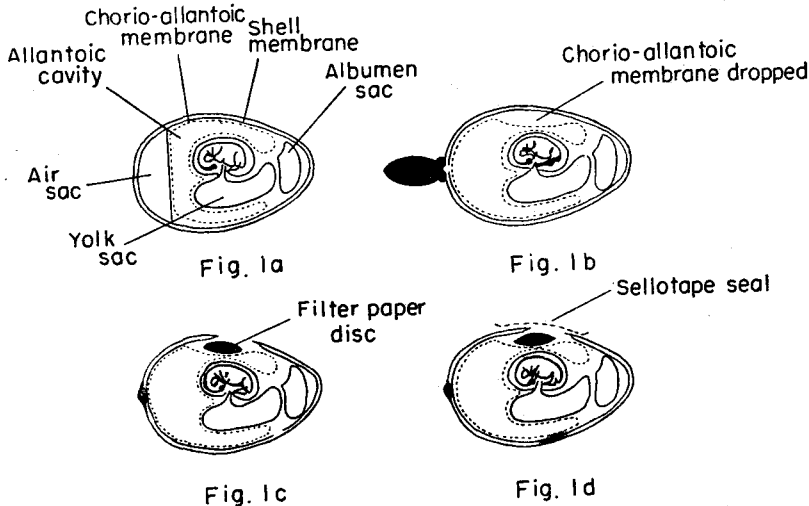


Fig. 1. (a) Chick embryo showing sacs and membranes;
 (b) Air sac evacuated and chorioallantoic membrane dropped;
 (c) Filter paper disc placed on the chorio-allantoic membrane;
 (d) Triangular opening through shell and shell membrane sealed with sellotape.

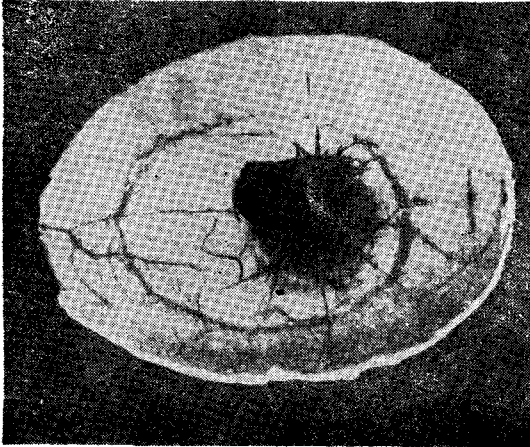


Fig. 2. Exposed chorio-allantoic membrane; the filter paper disc is shown after being incubated on the membrane for 4 days at 37°C. The embryo was incubated for 8 days before the implantation of the disc.

藥 物 :

이 實驗에 使用된 藥物은 hydrocortisone, sodiumsalicylate 와 AMKOA, 30-OMKOA 및 28-CMKOA 였다 (Fig. 3). disc 를 충분히 飽和시킬 수 있는 量인 0.025 ml 의 saline 에 hydrocortisone 63mg, sodium salicylate 2.5 mg, AMKOA, 28-OMKOA, 30-OMKOA 各各 0.1 mg 이 含有되도록 溶液을 마련하였다. disc 에 saline 0.025 ml 및 藥物을 含有한 溶液을 各各 0.025 ml 씩 滴下하여 disc 를 飽和시킨後 扶植하였다.

實 驗 成 績

Table 1 에 表示된 바와 같이 對照群에 比해 AMKOA, 30-OMKOA, 28-OMKOA 를 投藥한 경우에는 顯著한 消炎作用이 招來되어 肉牙組織 形成의 減少를 觀察할 수 있었으며 그 消炎程度가 sodium salicylate 보다 越等히 우수하고 hydrocortisone 과 比等한 消炎作用을 招來하였다.

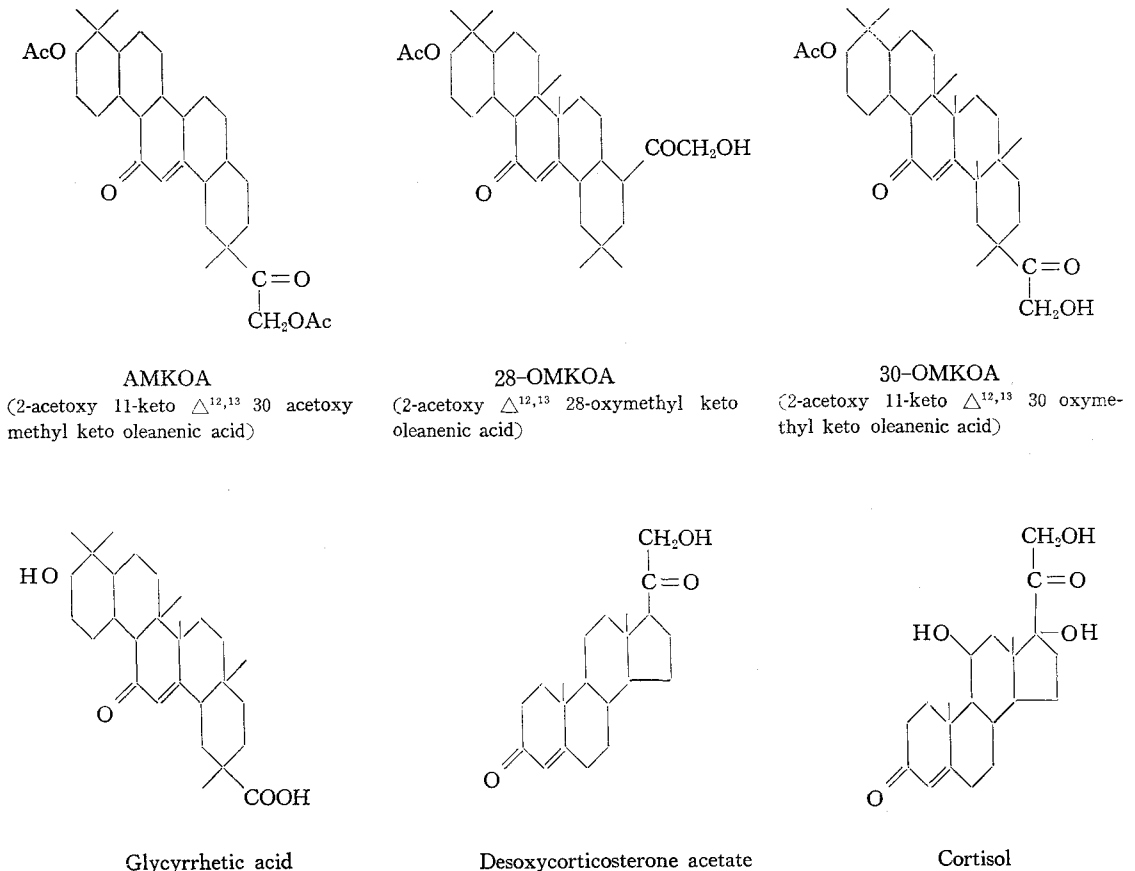


Fig. 3. Chemical structures of glycyrrhetic acid derivatives.

Table 1. The antiinflammatory action of glycyrrhetic acid derivatives. Mean Wt. granulation Tiss. /Disc mg

	Mean±S.D.	P
Control	13.7±2.4	
Hydrocortisone 63μg	4.5±0.7	0.001
AMKOA 0.1mg	6.3±0.8	0.001
30-OMKOA 0.1mg	6.3±0.7	0.01
28-OMKOA 0.1mg	5.7±0.7	0.01
Na Salicylate 2.5mg	10.8±3.2	0.2

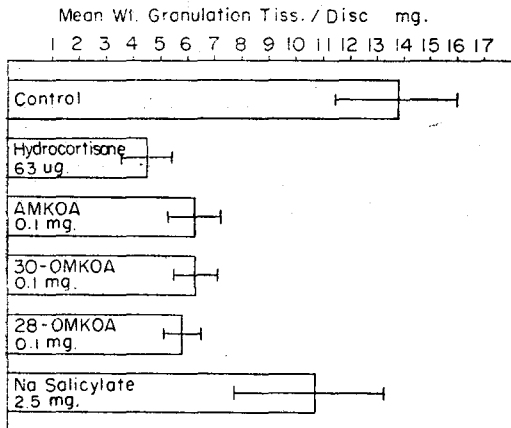


Fig. 4. The antiinflammatory action of glycyrrhetic acid derivatives.

考察 및 結論

Glycyrrhetic acid에서 AMKOA, 28-OMKOA 및 30-OMKOA를 合成하여 이들의 消炎作用을 比較觀察하였던 바 實驗成績에서도 指摘한 바와 같이 AMKOA, 28-OMKOA, 30-OMKOA는 sodium salicylate보다는 越等히 優秀하고 hydrocortisone과는 比等한 消炎作用을 招來하였다.

이러한 結果는 Tangri⁴⁾의 albino rat의 關節炎 治療에 對한 實驗에서 glycyrrhetic acid가 hydrocortisone과 比等한 強力한 消炎作用을 招來하였다는 事實과 一致하였다.

Whitehouse¹⁴⁾ 등에 依한 報告와 같이 glycyrrhetic acid와 glycyrrhizine이 oxidative phosphorylation과 sulphated mucopolysaccharide의 合成을 抑制한다는 事實이나 또 anti-inflammatory acidic drug 및 steroid는 mediator의 하나인 5-HT의 生成을 抑制하지 못한다는 事實 등을 考慮할 때 glycyrrhetic acid 및 그 誘導體는 直接的인 消炎作用을 招來하는 듯 하며 그 作用기전도 다른 消炎藥物과는 상이한 것으로 思料된다.

그러므로 앞으로 이들 藥物의 消炎作用에 對한 더욱 正確한 強度의 測定 및 그 作用기전의 究明을 爲해 여러 가지 다른 方法에 依한 研究檢討가 要望되는 것으로 思料된다.

REFERENCES

- 1) Groen, T. et al.: *Extract of Liquorice for the Treatment of Addison's disease. N. Eng. J. Med.* 244:471, 1951.
- 2) 紫田: S.N.M.C., *Cortisone, ACTH의 馬杉腎炎에 미치는 影響.*
- 3) Akira, Kumagai, Yano Saburo, et al.: *The corticoid-like action of glycyrrhizin and the mechanism of its action, Endocrin. Jap.* 4:17-27, 1957.
- 4) K. K. Tangri, P. K. Seth, Surendra S. Parmar and K.P. Bhargava: *Biochemical study of antiinflammatory & anti-arthritic properties of glycyrrhetic acid. Biochem. Pharmacol.* 14:1277-1281, 1965.
- 5) Kim: *The synthesis of 2-Acetoxy- $\Delta^{12,13}$ 30-oxymethyl-Keto oleanenic Acid and the others of glycyrrhetic Acid derivatives, the pharmacological studies of its Derivatives and D.C.A. Korea. J. of Interna Med.,* 6, 189, 1963.
- 6) P.F.D Arcy & E.M. Howard: *A new anti-inflammatory test, utilizing the chorio-allantoic membrane of the chick embryo Br. J. Pharmac. Chemother.,* 29:378-387, 1967.
- 7) Winder, C.V., Wax, J., Burr, V., Been, M. & Rosiere, C.E.: *A study of pharmacological influences on ultraviolet erythema in guinea-pigs. Archs. Int. Pharmacodyn. Ther.,* 116:261-292, 1958.
- 8) Winter, C.A., Risely, E. A. & Nuss, G. W.: *Carageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Esp. Biol. Med.,* 111:544-547, 1962.
- 9) Newbould, B.B.: *Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. Brit. J. Pharmac. Chemother.,* 21:127-136, 1963.
- 10) Meier, R., Schuler, W. & Desaulles, P.: *Zur Frage des mechanismus der Hemmung des Bindegewebswachstums durch cortisone. Experimentia,* 6:469-471, 1950.
- 11) Selye, H: *Use of "granuloma pouch" technique in the study of antiphlogistic corticoids. Proc. Soc.*

- Exp. Biol. Med.*, 82:328-333, 1953.
- 12) Holtkamp, D.E., Wang, R. & Doggett, M.: *Rapid method of measurement of anti-inflammatory activity utilizing fluid volume of experimentally inflamed pleural cavity of the rat. Fedr. Proc. Fedn. Am. Socs. Exp. Biol.*, 17:379, 1958.
- 13) Seifter, J., Baeder, D.H. & Begany, A.J.: *Influence of hyaluronidase & steroids on permeability of synovial membrane. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 72:277-282, 1949.
- 14) M.W. Whitehouse, & J.M. Haslam: *Ability of some anti rheumatic drugs to uncoupling oxidative phosphorylation. Nature, (Lond.)* 196:1323, 1962.