

p-Methoxycinnamic Acid의 消炎作用

申國鉉 · 李殷芳 · 禹源植*

(Received October 17, 1970)

Kuk Hyun Shin, Eun Bang Lee and Won Sick Woo:
Anti-inflammatory Action of *p*-Methoxycinnamic Acid.

Anti-inflammatory action of *p*-methoxycinnamic acid (*p*-MCA) was investigated. *p*-MCA showed a significant decrease in carrageenin and acetic acid induced edema of the rat hind paw, and increased capillary permeability by anaphylaxis and chemical mediators of pontamine sky blue in the mouse peritoneal cavity. It, however, showed only weak inhibitory effect on cotton pellet-induced granuloma formation of the rat.

p-Methoxycinnamic acid(*p*-MCA)**의 解熱 鎮痛作用에 對하여는 이미 報告된 바 있으며¹⁾ 또한 yeast, formalin, croton oil, egg white 및 dextran 등을 起炎物質로하여 誘發시킨 浮腫에 對한 本物質의 抑制効果와 本物質을 母核으로 한 數種 誘導體들과의 比較作用을 豫試驗的으로 報告한바 있다²⁾.

本報文에서는 本物質의 消炎劑로서의 實用 與否를 究明하기 爲하여 最近 消炎劑 研究에 利用되고 있는 數種實驗 model을 適用하여 本物質의 消炎效果를 詳細히 檢討한 結果를 報告한다.

實驗 方法

Rat 後肢足趾의 浮腫抑制作用——體重 110—120g의 Wistar系 雄性 rat를 實驗動物로하여 後肢足趾의 皮下에 1%-carrageenin-saline 및 5% AcOH-saline. 各各 0.1ml씩을 注射하고 Winter³⁾ 등의 方法에 準하여 時間的으로 增加하는 足趾의 浮腫을 plethysmometer로 測定하였다. 一群을 6匹로 하였으며 對照群에는 saline 만을, 實驗群에는 藥物을 起炎劑 適用 30分 前에 經口投與하였고 起炎劑 適用後 一定時間(5時間까지) 마다 浮腫容量을 測定하였다.

Chemical mediators에 依한 mouse腹腔內色素透過性抑制作用——Whittle⁴⁾의 方法에 依하였다. 體重 18~22g의 雄性 mouse 10匹씩을 1群으로 하고 實驗群 및 對照群에 藥物 및 saline을 各各 經口投與하였다. 30分後에 色素로서 pontamine sky blue(PSB)의 4% saline

* Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul, Korea.

** The following abbreviations are used; *p*-MCA, *p*-methoxycinnamic acid; PSB, Pontamine sky blue.

soln. (0.2ml/20g)을 尾靜脈에 注射하고 15分後에 數種의 chemical mediators(0.05% histamine, 0.01% 5-hydroxytryptamine, 및 0.001% bradykinin)를 各各 0.2ml/20g씩 腹腔內注射하였다. 20分後에 絞首하여 희생시키고 腹部를 切開하여 透過된 PSB를 蒸溜水로 씻어내어 全量을 10ml로 하였다. 이 滲出液에 0.1N-NaOH 0.1ml를 加하여 遠心分離後 上清液中の 色素量을 光電比色計(日立 FW-3)를 使用하여 570m μ 에서의 吸光度를 測定하여 求하였다.

Anaphylaxis惹起時의 mouse腹腔內色素透過性抑制作用——高木*等の 方法에 準하였다. 雌性 mouse 20g內外의 것을 選擇하여 體重 20g當 抗原(抗原 0.2ml 中에는 Freund's Complete Adjuvant(市販品) 및 bovine serum albumin 各各 0.05mg을 含有한다.) 0.2ml씩을 腹腔內注射하여 感作시킨後 21日間 放置하였다.

이 와같이 感作시킨 mouse(一群 20匹)에 藥物을 經口投與하고 20分後에 PSB-saline soln. 0.2ml/20g을 尾靜脈에 注射한 後 即時 抗原 0.2ml/20g을 腹腔內注射하여 challenge시켰다. 30分後에 絞首하여 희생시키고 腹腔을 切開하여 透過한 色素量을 chemical mediators 適用時와 同一한 方法으로 測定하였다.

Granuloma 形成抑制作用——Winter⁵⁾의 cotton pellet method에 依하였다. 即 體重 140~150g의 雄性 wistar系 rat(一群 6匹)를 ether로 가볍게 麻醉시키고 重量 10mg의 滅菌한 乾燥 cotton pellet를 rat의 背部兩側의 皮下에 各各 1個씩 扶植시켰다. 藥物은 pellet 扶植 前日 부터 每日 1回씩 皮下投與하였으며 7日間 繼續하였다. rat를 撲殺시키고 pellet를 摘出하여 濕時重量을 測定하고 60°C에서 恒量이 되도록 乾燥하여 乾燥重量을 測定하였다. 同時에 胸腺 및 副腎을 摘出하여 重量의 變動을 보았다.

實驗結果

Rat後肢足趾의 浮腫抑制作用——Carrageenin 및 AcOH를 起炎劑로 한 實驗結果는 各各 Table I 및 Table II와 같다. 浮腫은 起炎劑를 適用한 足의 容積과 正常足의 容積과의 差로

Table I—Effects of *p*-MCA on rat paw edema induced by carrageenin.

Compounds	Dose (p.o.) mg/kg	Percent increase of paw volume after the injection of 1% carrageenin.					
		0.5	1	2	3	4	5(hr.)
Saline	—	17.9 ±1.7	33.2 ±2.8	48.2 ±2.4	62.3 ±5.3	69.6 ±4.4	69.7 ±7.6
<i>p</i> -MCA	400	16.3 ±2.9 (9.0) ^{a)}	26.8 ±2.3 (19.2)	36.0 ±2.9 (25.4) ^{b)}	48.8 ±3.7 (21.7) ^{b)}	68.9 ±7.2 (1.0)	73.4 ±6.2 (-5.3)
<i>p</i> -MCA	800	15.6 ±1.8 (13.1)	23.5 ±2.1 (29.1) ^{b)}	27.3 ±3.2 (43.5) ^{c)}	38.5 ±4.2 (38.2) ^{b)}	50.5 ±2.3 (27.4) ^{b)}	61.5 ±6.3 (11.7)
Aspirin	400	12.7 ±2.3 (29.4)	18.5 ±3.5 (44.1) ^{b)}	25.3 ±3.1 (47.5) ^{c)}	30.8 ±3.8 (50.5) ^{c)}	46.2 ±3.4 (29.4) ^{b)}	45.8 ±5.7 (34.2) ^{b)}

a) Inhibition percent of edema

b) Significant $p < 0.05$ vs. saline

c) Significant $p < 0.01$ vs. saline

* K. Takagi, personal communication.

하였고 浮腫增加率は 起炎物質 適用으로 인한 浮腫의 容積과 適用前의 正常足의 容積과의 差와의 比를 100分率로서 表示하였다. 浮腫抑制率は 對照群의 浮腫增加率과 藥物投與群의 浮腫增加率과의 差와의 比를 100分率로서 表示하였다. Table I에 依하면 p-MCA 400mg/kg p.o. 投與에 依해서 carrageenin適用 後 2時間 및 3時間 만이 有意性있는 抑制를 나타내었으며 800mg/kg p.o. 投與時에는 aspirin 400mg/kg p.o. 投與時와 거의 同等한 抑制效果를 나타내었다. Table II에서 보는바와같이 AcOH適用時도 類似한 結果를 얻었다.

Table II—Effects of p-MCA on rat paw edema induced by acetic acid.

Compounds	Dose (p.o.) mg/kg	Percent increase of paw volume after the injection of 5% AcOH					
		0.5	1	2	3	4	5(hr.)
Saline	—	30.9 ±3.4	48.5 ±4.0	61.4 ±4.4	68.4 ±3.1	65.8 ±5.1	62.0 ±4.8
p-MCA	400	26.5 ±3.0 (14.3) ^{a)}	39.1 ±4.7 (19.4)	46.9 ±2.4 (23.5) ^{b)}	56.4 ±2.9 (17.5) ^{b)}	60.3 ±4.4 (8.3)	64.7 ±4.4 (-4.4)
p-MCA	800	23.4 ±2.4 (24.4) ^{b)}	27.7 ±2.8 (42.9) ^{c)}	40.1 ±5.8 (34.7) ^{b)}	44.2 ±3.1 (35.9) ^{c)}	48.9 ±2.5 (25.7) ^{b)}	49.8 ±2.5 (19.6) ^{b)}
Aspirin	400	21.7 ±2.0 (29.7) ^{b)}	29.2 ±2.1 (39.8) ^{c)}	34.0 ±2.7 (44.7) ^{c)}	37.4 ±2.5 (45.3) ^{c)}	40.7 ±3.1 (38.1) ^{c)}	43.7 ±3.9 (29.5) ^{b)}

a), b), and c), See the footnote of Table I.

Chemical Mediator에 依한 mouse腹腔內色素透過性抑制作用——實驗結果는 Table III에 表示 한바와 같다. 色素透過抑制率は 浮腫抑制率과 同一한 方法으로 算出하였다. Table III에 依하면 各 mediator投與群에서는 control群에 比하여 顯著한 色素의 腹腔內透過를 나타내었다

Table III—Effects of the drugs on peritoneal cavity permeability of PSB stimulated by chemical mediators.

Chemical mediators	Drugs (mg/kg) (p.o.)	PSB(μ g/10ml) ±S.E.
Saline	Saline	43.2±6.7
0.05% Histamine	Saline	60.4±8.4
	Aspirin (200)	30.8±4.8*
	p-MCA (400)	36.6±3.5*
0.01% 5-Hydroxytryptamine	Saline	79.8±6.2
	Aspirin (200)	55.4±6.7*
	p-MCA (400)	43.9±4.4*
0.001% Bradykinin	Saline	89.5±7.4
	Aspirin(200)	47.5±5.2*
	p-MCA(400)	50.9±4.7*

* Significant, $p < 0.05$, vs. control.

p-MCA의 投與(400mg/kg p.o.)에 依해서 有意性있는 抑制率을 나타내었으며 이는 aspirin 200mg/kg p.o. 投與時와 거의 同等한 抑制率이었다.

Anaphylaxis에 依한 mouse腹腔內色素透過性抑制作用—Table IV에 實驗結果를 表示하였다. anaphylaxis를 일으킨 control群에서는 顯著한 色素透過를 보였으나 *p*-MCA 400mg/kg p.o. 投與群과 aspirin 200mg/kg p.o. 投與群에서 同等한 色素透過抑制率을 나타내었다.

Table IV—Effects of the drugs on mouse peritoneal cavity permeability of PSB in anaphylaxis.

Drugs	Dose mg/kg (p.o.)	PSB(μ g/10ml) \pm S.E.
Control (non-sensitized)	—	48.6 \pm 6.3
Control(sensitized)	—	83.1 \pm 9.5
<i>p</i> -MCA	400	62.4 \pm 6.5*
Aspirin	200	57.7 \pm 7.6*

* Significant, $p < 0.05$ vs. control.

Granuloma 形成抑制作用—Fig. 1 및 Fig. 2에 實驗結果를 表示하였다. Fig. 1에 依하면 對照群 및 實驗群 모두 統計의오르 有意性있는 pellet 重量의 減少를 나타내지 않았다. Fig. 2에 依하면 hydrocortisone acetate 30mg/kg p.o. 適用群에서는 顯著한 胸腺 및 副腎의 萎縮을 일으킨 反面 *p*-MCA 投與時는 거의 變化를 認定할 수 없었다.

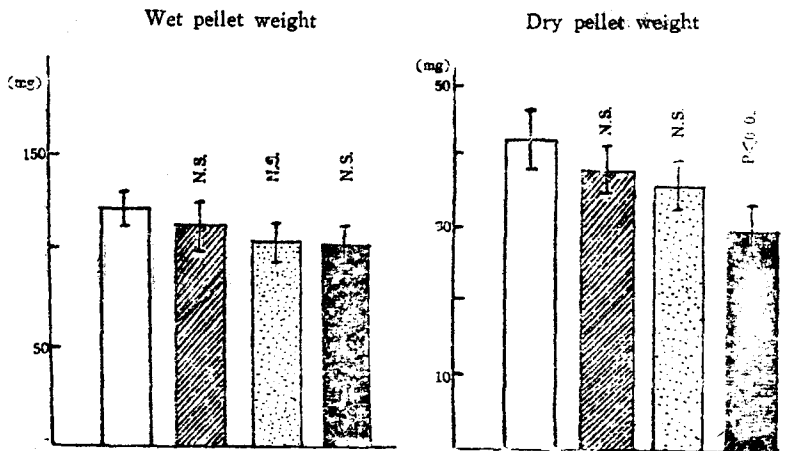


Fig. 1—Effect of *p*-MCA on cotton pellet of the rat.

□ Control

▨ *p*-MCA 100mg/kg(s.c.)

▩ *p*-MCA 200mg/kg(s.c.)

■ Hydrocortisone acetate 30mg/kg(s.c.)

Vertical lines; S.E.

N.S.; not-significant

Six rats were used for each group.

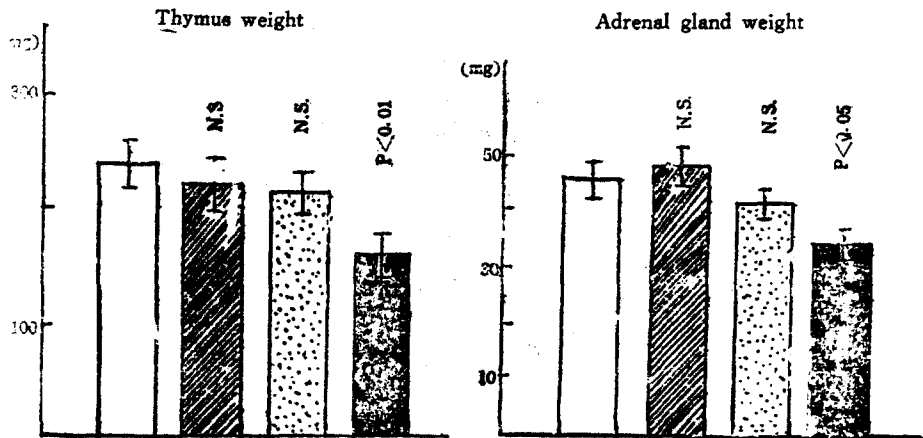


Fig. 2—Effects of *p*-MCA on thymus and adrenal gland on cotton pellet test.

□ Control

▨ *p*-MCA 100mg/kg(s.c.)

▩ *p*-MCA 200mg/kg(s.c.)

■ Hydrocortisone acetate 30mg/kg (s.c.)

Vertical lines; S.E.

N.S.; not-significant

Six rats were used for each group.

考 察

p-MCA는 carrageenin 및 AcOH浮腫을 顯著히 抑制하며, formalin, egg white, yeast, 및 dextran浮腫 等에도 抑制效果가 있다²⁾. 또한 chemical mediators適用에 依하여 亢進시킨 血管透過性抑制를 나타내는 反面 cotton pellet method에 있어서의 granuloma形成抑制效果 또는 副腎 및 胸腺의 萎縮作用이 거의 없다. 炎症의 第1段階는 血管擴張 및 血透過性亢進 第2段階는 多核白血球의 粘着 및 遊走 第3段階는 細胞의 浸潤, 結合織의 增殖 및 血管新生 等으로 區分되고 있으며^{6,7)} 血管透過性亢進은 histamine⁸⁻¹¹⁾, serotonin^{9,10)} 및 bradykinin^{12,13)} 等이 重要な mediator로서 關與하고 있음은 周知의 事實이다. Table IV에 表示한바와 같이 *p*-MCA는 또한 mouse에 anaphylaxis를 惹起시킨後 亢進되는 血管透過도 顯著히 抑制시켰다. mast cell은 高濃度의 histamine을 含有하며¹⁴⁾ mouse, rat 및 guineapig에 active anaphylaxis를 惹起시키면 mast cell이 破壞되어 histamine이 遊離됨이 證明되었고¹⁵⁻¹⁷⁾ Code¹⁸⁾ 는 guineapig에 對한 anaphylaxis時 血中에 histamine이 出現함을 證明하였다. 또한 Garcia-Arocha¹⁹⁾는 anaphylactic shock를 일으킨 rat의 回腸으로부터 serotonin이 遊離됨을 報告하였고 Brochehurst等²⁰⁾은 ovalbumin으로 感化시킨後 alum-precipitated antigen을 注射한 rat, rabbit, 및 guineapig의 血中에서 bradykinin의 存在를 確認한바 있다. 以上과 같은 여러 實驗結果들에 依한다면 anaphylaxis惹起時의 血管透過性亢進도 histamine, serotonin 및 bradykinin等의 遊離에 起因함을 알수있다. *p*-MCA의 消炎作用機轉의 하나로서 腦下垂體 前葉副腎皮質系를 통한 作用을 生覺할수도 있으나²¹⁾ *p*-MCA가 여러 chemical mediator로 亢進시킨 血管透過를 抑制한다는 事實과 anaphylaxis時의 血管透過性을 抑制한다는 事實等을 綜合하여 볼때 *p*-MCA의 消炎作用으로서 chemical mediator에 對한 直接的인 拮抗作用을 통한 機轉도 考慮하여야 될 것이다.

結 論

p-MCA는 rat에 經口投與時 carrageenin 및 AcOH 浮腫에 有意的인 抑制效果가 있으며 anaphylaxis를 惹起시킨 mouse와 刺戟劑 histamine, 5-hydroxytryptamine 및 bradykinin을 適用시킨 mouse에 있어서의 色素(PSB)血管透過性抗進을 有意的으로 抑制한다.

rat에 依한 cotton pellet test에서는 有意性있는 granuloma形成에 對한 抑制作用이 없으며 胸腺 및 副腎重量에도 거의 變化가 없다.

本研究의 一部는 東京大學藥學部 藥品作用學教室에서 實驗하였으며 協助하여 주신 高木教授 및 教室員에게 感謝한다.

文 獻

1. 禹, 本誌 7, 55(1963); 9, 31(1965)
2. E.B. Lee, K.H. Shin and W.S. Woo, *J. Med. Chem.*, 11, 1262(1968)
3. C.A. Winter, E.A. Risley and G.W. Nuss, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 141, 369(1963)
4. B.A. Whittle, *Brit. J. Pharmacol.*, 22, 246(1964)
5. C.A. Winter, in *non-steroidal anti-inflammatory drugs*, p-190, Excerpta Medica Found., Amsterdam, Holland(1965)
6. M. Weiner and S.J. Piliero, *Ann. Rev. Pharmacol.*, 10, 171(1970)
7. 水島, 炎症斗抗炎症劑, p-633, 南江堂 (1968)
8. D.S. Wilhelm and B. Mason, *Brit. J. Exptl. Pathol.*, 41, 487(1960)
9. R. Meier, in *Medizinische Grundlagenforschung* (K.F. Bauer, Ed.), p-385, Thieme, Stuttgart (1959)
10. D.L. Wilhelm, *Pharmacol. Rev.*, 14, 251(1962)
11. W.G. Spector and D.A. Willoughby, *Bacteriol. Rev.*, 27, 117(1963)
12. L.M. Greenbaum, M.C. Carrau and R. Freer, *Fed. Proc.*, 27, 90(1968)
13. H.Z. Movat and N.L. Dilorenzo, *Lab. Invest.*, 19, 187(1968)
14. J.F. Riley and G.B. West, *J. Physiol.*, 120, 528(1953)
15. I. Mota, *Brit. J. Pharmacol.*, 12, 453(1957); *Nature* 182, 1021(1958); *Immunol.*, 5, 11(1962); *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 103, 264(1963)
16. I. Mota and I. Vugman, *Nature* 177, 427(1956)
17. R.D. Higgibotham and T.J. Dougherty, *J. Immunol.*, 79, 259(1957)
18. C.F. Code, *Am. J. Physiol.*, 127, 78(1939)
19. H. Garcia-Arocha, *Can. J. Biochem. Physiol.*, 39, 403(1961)
20. W.E. Brocklehurst and S.C. Lahiri, *J. Physiol.*, 160, 15(1962)
21. W.S. Woo, *Seoul Univ. J.(C)*, 14, 119(1963)