

동물성 소염진통제(I)

— 구인다당체분획의 소염·진통 및 면역억제작용 —

김창종·최윤석·조승길

중앙대학교 약학대학

(Received February 20, 1991)

Anti-inflammatory Agents from Animals(I)

— Anti-inflammatory, Analgesic and Immunosuppressive Activities of
Earthworm *Allolobophora caliginosatrapezoides*
Polysaccharide Fractions —

Chang-Johng Kim, Yun-Seuk Choi and Seung-Kil Cho

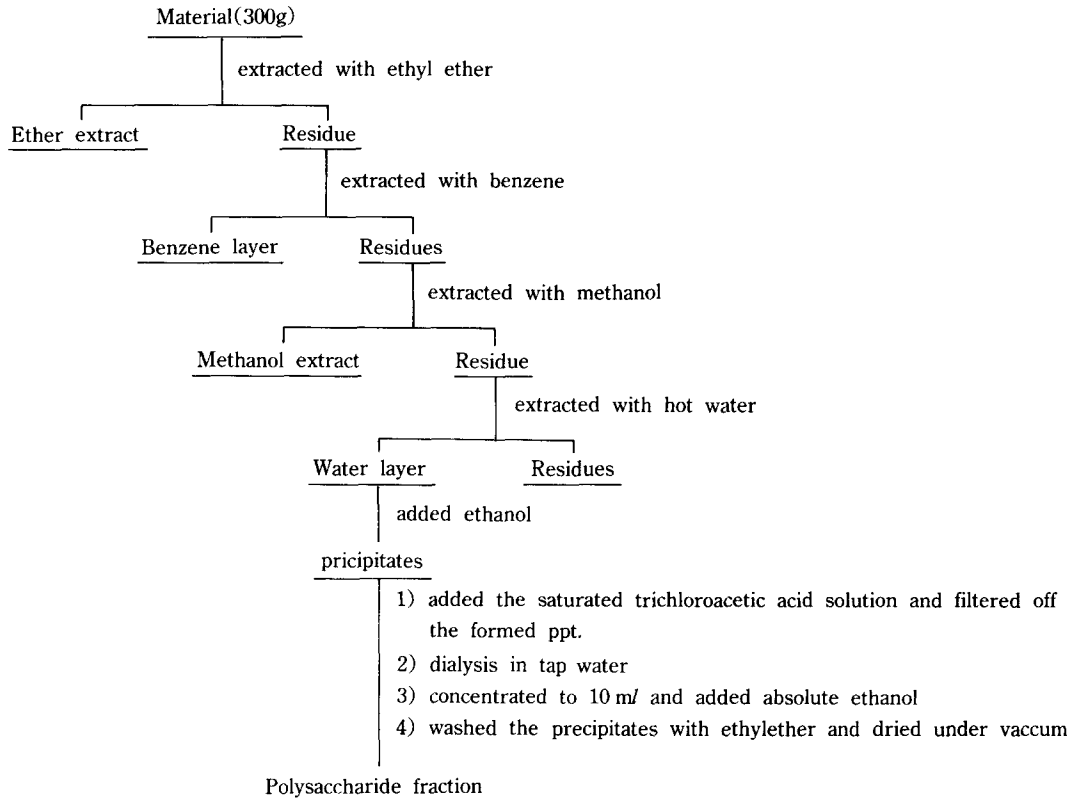
College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract— Effects of *Allolobophora caliginosatrapezoides* (Ac) polysaccharide fractions on the inflammation and hypersensitivity were studied *in vivo*. It showed that Ac polysaccharide fractions have the significant inhibitory activities of inflammation and hypersensitivity; They inhibited significantly the carrageenin-induced paw edema and acetic acid-induced writhing syndrome. They also inhibited significantly the Arthus reaction and delayed hypersensitivity in the sheep red blood cell-sensitized mice in accordance with the inhibition of haemagglutinin titer, haemolysin titer, plaque-forming cells and rosette-forming cells. They also improved markedly the oxazolone-induced dermatitis in rats dose-dependently. As the above results, it exhibited that Ac polysaccharide fraction inhibited not only humoral immune response, but also cell-mediated immune response. It seemed that methanol and ether extracts have also another physiological active agents.

Keywords □ *Allolobophora caliginosatrapezoides*, polysaccharide, anti-inflammatory and analgesic action, anti-hypersensitivity, sheep red blood cell-mediated hypersensitivity, Arthus reaction, haemagglutinin titer, haemolysin titer, plaque-forming cells, rosette-forming cells, delayed hypersensitivity, oxazolone-induced dermatitis.

구인(蚯蚓)은 낙시지렁이과(Lumbricidae)에 속하는 갈색낙시지렁이(*Allolobophora caliginosatrapezoides* ANT. DUGES)¹⁾의 총체를 건조한 동물생약으로써 한방²⁾에서는 해열, 진경, 구충, 이노, 해독, 통경, 거담, 간보호, 항염 및 보혈작용 등이 있고 무독하여 고래로부터 고열, 중풍, 반신불수, 간질, 고혈압, 두통, 배뇨곤란, 열사병, 뱀자상, 복수, 기관지천식, 지방간, 황달, 임파선염, 이하선염, 후두염, 상처 및 암종 등의 치료^{1,4)}에 사용되어 왔다. 그러나 이러한 광범위한 효능을 갖는 구인에는 lumbricin,^{2,3)} lumbroferin,^{2,3)} telestrolubricin,²⁾ agglutinin,⁴⁾ lipid,⁵⁾ 점액,⁶⁾

다당체,^{7,8)} 아미노산⁹⁾ 및 효소¹⁰⁻¹²⁾ 등이 함유되어 있다고 보고되어 있으나 생리활성 성분에 관하여 규명되어 있지 않았다. 그러나 최근에 Yoneda 등³⁾은 구인에서 단리한 2-ethyl-5-hexylburan-3-sulfonic acid가 항혈액응고작용, 항혈소판응집작용, 소화성궤양억제작용 및 혈관평활근수축억제작용이 있다고 보고되었고, 또 lumbricin이 용혈작용,^{3,14)} lumbroferin, 지방질 및 단백질이 해열작용^{15,16)}이 있다고 보고되었다. 또한 구인수침엑스가 항균작용,¹⁷⁾ 간보호작용,¹⁸⁾ 지각마비작용,²⁾ 혈압강하작용²⁾, 평활근수축억제작용²⁾ 및 기관지확장작용²⁾ 등이 있다고 보고되어 있다. 특히



Scheme 1—Fractionation of polysaccharide fraction from *Allolobophora caliginosatrapezoides*.

민간에서 편도선염, 임파선염 및 이하선염 등에 사용되고 한방에서 주로 염증성질환에 사용되고 있는 것으로 보아 항염작용이나 면역억제작용이 있을 것으로 사료된다.

따라서 구인의 생리활성 성분을 분리하고자 구인의 다당체, 단백질 및 유기용매분획들을 추출하여 이들이 염증과 과민반응에 미치는 영향에 관하여 실험한 결과 다당체분획 및 메탄올엑스가 소염·진통작용과 과민반응억제작용이 있음을 확인하였기에 보고한다.

실험재료 및 방법

실험재료—본 실험에 사용한 구인은 1988년 7월에 경기도 문산에서 채취하여 음건한 후 조말로하여 사용하였다.

시약—Carrageenin과 oxazolone은 Sigma Co.(미국), guinea pig complement와 면역적혈구(S-RBC)는 국립보건원에서 제공받아 사용하였다.

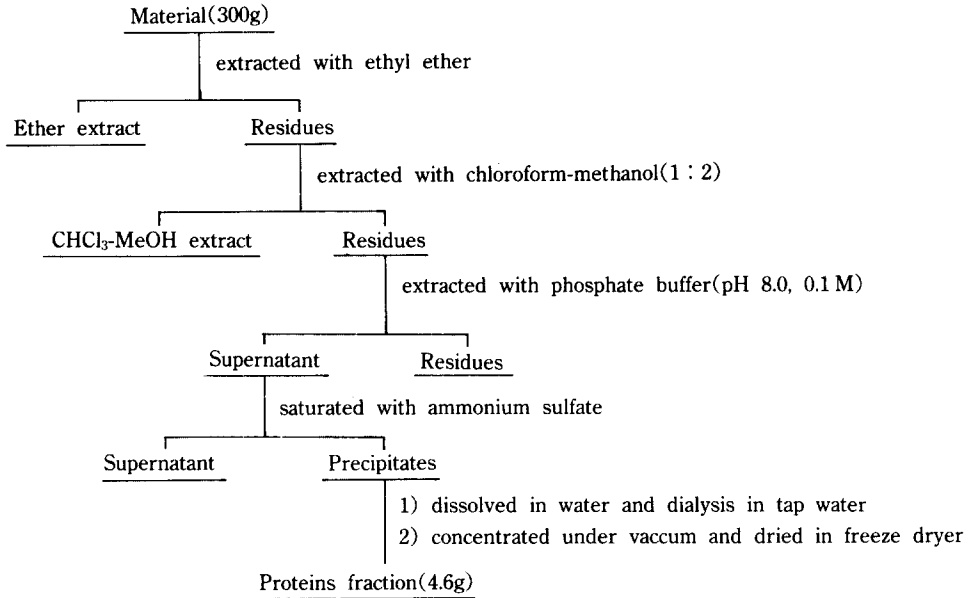
실험동물—일정한 조건하에서 일주일간 사육한 외견상 건강한 체중 140~180g의 Sprague-Dowley계 숫컷 흰쥐와 체중 18~22g의 ICR계 숫컷 mouse를 실험 전 18시간 동안 절식시킨 후 사용하였다.

다당체 및 단백질분획 추출—구인 300g씩을 각각 seperatory funnel에 취하여 Scheme 1 및 2에 따라 다당체 및 단백질분획 5.9 및 4.6g을 각각 얻었다.

Carrageenin 염증유발—Winter법¹⁹⁾에 따라 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 약물을 경구투여하고 난 1시간 후에 1% carrageenin 생리식염액 0.1 ml/rat를 후지 족척에 피하주사하고 부종을 일으킨 후 4시간 동안 매시간마다 용적법에 따라 부종울을 측정하였다.

진통작용—Whittle법²⁰⁾에 따라 mouse 10마리를 1군으로 하여 약물을 경구투여하고 난 1시간 후에 0.7% 초산생리식염액 0.1 ml/10g을 복강주사한 10분 후부터 나타나는 writhing syndrome 횟수를 통각지표로 하여 진통작용을 실험하였다.

면역적혈구감작 과민반응유발—Mouse 12마리를 1



Scheme 2—Isolation of protein fraction from *Allolobophora caliginosatrapezoides*.

군으로 하여 먼저 면양적혈구 10^6 개를 꼬리정맥에 주사하여 감작시킨 후 4일째에 다시 면양적혈구 10^8 개를 후지죽척피하에 주사하여 재감작시킨 후 6마리는 4시간째에 Arthus reaction(제 3형과민반응)으로 나타나는 족부종을 engineer's micrometer로 두께를 측정하여 부종율을 산출하였다. 또 남은 6마리는 24 시간째에 지연형(제 4형)과민반응으로 나타나는 족부종을 같은 방법으로 부종율을 측정하였다.²¹⁾

면양적혈구용혈소가 측정—위와 같이 제 4형과민반응의 결과로 나타나는 족부종을 측정하고 난 후 곧, mouse의 대퇴동맥을 절단하고, hematocrit 측정용모세관에 채혈하여 응고시킨 후 원심분리(12,000 rpm)하여 혈청을 분리하고, 56°C에서 30분간 가열하여 비동화시킨 후 4°C에 보존하고 12시간내에 용혈소가를 측정하였다. microtitration tray를 사용하여 각 실험동물로부터 분리한 각각의 비동화 혈청 0.025 ml를 Hank's balanced salt solution(HBSS)으로 2배 계열 희석하고 여기에 HBSS에 부유시킨 0.5% 면양적혈구액 0.025 ml를 잘 혼합하여 각 well에 넣고, 20배 희석한 guinea pig complement 0.02 ml를 가한 다음 37°C에서 1시간 방치하여 용혈상태를 관찰하고, 이를 4°C에서 하룻밤 방치하여 최종판독하였다. 이 때 완전용혈을 일으키는 혈청의 최고희석배수(x)를 판정

하고, $\log 2x$ 로 그 혈청의 용혈소가를 나타냈다.²²⁾

면양적혈구응집소가 측정—위의 면양적혈구용혈소가 측정에서와 같은 방법으로 동일한 동물에서 얻은 비동화혈청 0.025 ml를 microtitration tray를 사용하여 HBSS로 2배 계열희석하고 각 well마다 4°C HBSS에 부유시킨 0.5% 면양적혈구액 0.025 ml를 넣어 잘 혼합하고 37°C에서 18시간 방치한 다음 응집을 일으킨 혈청의 최고희석도(x)를 측정하고 $\log 2x$ 로 그 혈청의 적혈구응집소가를 나타내었다.²³⁻²⁵⁾

용혈반형성세포수 측정—위와 같이 제 4형과민반응의 결과로 나타나는 족부종을 측정하고 난 후 곧 체혈하여 급사한 mouse의 비장을 무균적으로 적출하여 4°C HBSS에 넣고 nylon체(100 mesh)에서 유리봉으로 압착하여 여과하고 여기에 4°C HBSS를 넣고 4°C에서 3회 반복하여 원심분리(800×g)하여 세척한 후 일정한 농도가 되도록 4°C HBSS로 재부유시켜 비장세포 용액을 제조하였다. 이 부유액을 사용직전에 trypan blue exclusion test로 비장세포생존율을 측정하여 일정한 농도로 조절하여 사용하였다. 용혈반세포수는 Jerne법²⁶⁾을 개량하여 다음과 같이 측정하였다. 즉 25% 면양적혈구($2 \times 10^9/ml$) 50 μl 와 HBSS로 10배 희석한 guinea pig complement를 1 : 2 비율로 시험관에서 혼합하고, ice bath에서 30분간 배양한 후

Table I—Anti-inflammatory activities of *Allolobophora caliginosatrapezoides* extracts, polysaccharide and protein fractions on carrageenin-induced paw edema.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Swelling(%) ²⁾			
			1 hr	2 hr	3 hr	4 hr
Control	—	6	21.85±0.79	34.75±0.65	50.82±0.79	55.87±0.50
Ether extract	50	6	21.70±0.74	34.41±1.31	48.61±1.62	54.65±2.11
	100	6	20.12±0.44	33.18±0.21	45.50±0.63	49.41±1.44*
Methanol extract	200	6	15.02±0.70**	28.92±1.56*	39.52±1.74**	43.80±1.60**
	50	6	17.26±1.00*	27.00±0.39**	35.39±0.63**	39.73±0.86**
	100	6	16.72±0.61**	25.83±1.03**	34.62±0.76**	39.07±0.76**
Polysaccharide fraction	200	6	11.70±0.35**	23.24±0.49**	30.73±1.37**	36.74±1.51**
	50	6	18.28±2.05	30.97±1.09	36.80±2.00**	41.63±2.50**
	100	6	17.30±1.03*	27.61±0.82**	35.10±2.04**	40.35±2.83**
Protein fraction	200	6	15.37±0.92**	24.81±1.01**	32.21±1.36**	38.07±1.27**
	50	6	22.92±1.13	38.09±2.92	54.08±3.72	56.36±4.54
	100	6	15.87±0.82**	32.48±2.60	50.17±3.21	54.66±3.14
Prednisolone	200	6	21.87±0.62	37.22±2.10	52.61±1.62	51.65±2.11
	10	6	14.97±0.74**	25.82±2.55**	33.87±3.46**	38.81±2.66**
Aspirin	80	6	13.10±2.37**	24.19±0.51**	31.81±1.96**	37.41±1.63**

1) Drugs were orally administered 1 hour before 1% carrageenin injection(0.1 ml/rat, s.c.).

2) Paw volume was measured everytime 1 hour after carrageenin injection.

Each value represents the mean±S.E.

Significantly different from control(*; p<0.05 and **; p<0.01).

이 배양액 10 μ 를 U-plate에 취하고 여기에 비장세포부유액(10^7 cells/ml) 30 μ 를 넣어 혼합하고 즉시 slide glass 2장을 양면 tape으로 합하여 제조한 특수 microchamber(높이 0.2 mm, 가로 10 mm, 세로 10 mm)에 넣고 wax로 밀봉하여 37°C에서 30분간 배양한 후 현미경으로 용혈반을 산정하였다.

Rosette 형성세포수 측정—용혈반형성세포수 측정 방법과 동일하게 제조한 비장세포부유액 0.2 ml(5×10^6 cells)와 면양적혈구부유액 0.25 ml(5×10^7 cells)를 혼합하고 12분간 원심분리(200×g)한 다음 4°C에서 2시간 방치한 후 조심스럽게 흔들어서 재부유시킨 다음 이액 1 방울을 혈구계산판에 적하하여 현미경에서 비장세포 1개에 면양적혈구 3개 이상이 부착된 비장세포를 rosette 형성세포로 판정하였으며, 다음 계산식에 따라 rosette 형성세포수를 계산하였다.²⁷⁾

Rosette-forming cells(%) =

$$\frac{\text{No. of rosette-forming cells}}{\text{Total cells counted} \times \text{Viability}} \times 100$$

Oxazolone 과민반응 유발—흰쥐 6마리를 1군으로 하여 먼저 복부를 면도하고 10% oxazolone acetone

용액 50 μ 를 도포하여 감각시킨 다음 약물을 9일간 매일 1회씩 경구투여하고 난 후 제 10일째에 다시 1% oxazolone acetone 용액 10 μ 를 오른쪽 귀에 도포하여 재감작시킨 후 24, 48, 72 및 120시간째에 각각 귀의 두께를 engineer's micrometer로 측정하여 부종율을 계산하였다.²⁸⁾

통계처리—본 실험에서 얻은 결과는 Student t-test로 통계처리하여 유의성을 검토하였다.

결과 및 고찰

소염·진통작용

소염작용—기체제로서 1% carrageenin 생리식염액 0.1 ml/rat를 주사하여 유발되는 족부종을 구인메탄올엑스 50, 100 및 200 mg/kg 투여군과 구인다당체분획 100 및 200 mg/kg 투여군에서 유의성 있는 용량의존적인 소염작용이 있었으며, 또 에텔분획 200 mg/kg 투여군에서도 유의성 있는 소염작용이 있었다(Table I). 이러한 구인의 소염작용은 메탄올엑스가 가장 강하였으며, 그 효능은 아스피린의 약 1/2, prednisolone의 약 1/10 정도였으며, 다당체분획보다

Table II—Analgesic activity of *Allolobophora caliginosatrapezoides* extracts, polysaccharide and protein fractions.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.c.)	No. of animals	No. of writhing ²⁾ for 10 mins.	Inhibition (%)
Control	—	6	34.1±0.8	—
Ether extract	100	6	23.4±0.6**	31.43
	200	6	17.2±0.5**	49.66
Methanol extract	100	6	28.4±0.5*	16.89
	200	6	21.1±0.7**	38.04
Polysaccharide fraction	100	6	20.4±0.6**	40.21
	200	6	17.4±0.4**	48.99
Protein fraction	100	6	31.0±0.7	9.28
	200	6	27.2±0.7*	20.51
Aminopyrine	50	6	14.1±0.6**	58.35

1) Drugs were orally administered 1 hour before i.p. injection of 0.7% HAc saline solution at a dose of 10 ml/kg.

2) No. of writhing syndrome was counted 10 min. after injection of HAc saline solution.

Each values represents the mean±S.E.

Significantly different from control. (* ; p<0.05 and ** ; p<)

Table III—Effect of *Allolobophora caliginosatrapezoides* extracts, polysaccharide and protein fractions on the development of Arthus reaction and delayed hypersensitivity in the S-RBC-sensitized mice.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Arthus reaction at 4 hour after challenge ²⁾	Delated hypersensitivity at 24 hour after challenge ²⁾
Control	—	6	23.54±2.82	20.97±3.06
Ether extract	100	6	18.62±1.70*	16.26±3.57*
	200	6	12.06±0.92**	10.73±1.04**
Methanol extract	100	6	21.10±1.38	20.29±2.13
	200	6	14.75±1.89**	13.19±2.18*
Polysaccharide fraction	100	6	11.77±0.98**	12.42±1.87*
	200	6	10.87±1.51**	10.35±2.40**
Protein fraction	100	6	13.54±2.26**	19.03±2.30
	200	6	24.59±2.62	20.42±3.04
Prednisolone	10	6	18.50±2.41*	17.84±3.08
	20	6	13.12±2.78**	11.48±3.23*
Cnlorpheniramine maleate	10	6	19.56±2.15	18.06±3.28
	20	6	18.68±2.99*	16.06±3.15*

1) Drugs were orally administered daily for 4 day from day 1 to 4

2) Animals were intravenously sensitized with 10⁶ S-RBC and on day 4 challenged with s.c. injection of 10⁸ S-RBC.

Each values are the means of increase(%) in foot paw thickness with standard errors

Significantly different from control. (* ; p<0.05 and ** ; p<)

소염작용이 더 강하였다. Di Rosa 등²⁹⁾은 carrageenin 유발염증에서의 염증매개물이 1시간이내에 histamine과 serotonin, 2.5시간내에는 kinins, 2.5시간 이후에는 prostaglandin이라고 보고하였던 바 구인메탄올 엑스 및 다당체분획이 1~4시간에 소염작용을 갖는 것으로 보아 이들이 위의 염증매개물의 방출을 억제함으로써 소염작용을 나타내는 것으로 사려된다.

진통작용—0.7% 초산생리식염액을 mouse 복강에 주사하여 발생하는 writhing syndrome이 구인에텔엑스, 다당체분획 및 메탄올 엑스 100 및 200 mg/kg 투여로 각각 용량의 존적으로 유의성있게 억제되었다 (Table II). 그 효능은 구인에텔엑스와 다당체분획 200 mg/kg 투여군에서 writhing syndrome이 각각 약 50% 억제되었지만 aminopyrine 50 mg/kg 투여군보

Table IV—Effect of *Allolobophora caliginosatrapezoides* extracts, polysaccharide and protein fractions on the immune response in the S-RBC-sensitized mice.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.c.)	No. of animals	HA titer ²⁾	HY titer ²⁾	PFC ²⁾ ($\times 10^3/10^6$ spleen cell)		RFC ²⁾ (%)
Control	—	6	4.92 \pm 0.16	5.99 \pm 0.27	3.73 \pm 0.41		22.42 \pm 3.86
Ether extract	100	6	3.13 \pm 0.21	3.38 \pm 0.21	2.43 \pm 0.13		21.92 \pm 0.34
	200	6	3.08 \pm 0.43*	3.32 \pm 0.27*	2.31 \pm 0.51		20.41 \pm 0.67
Methanol extract	100	6	2.66 \pm 0.30*	3.02 \pm 0.18*	2.02 \pm 0.13*		18.59 \pm 1.85
	200	6	2.41 \pm 0.21**	2.82 \pm 0.31*	1.44 \pm 0.17**		16.19 \pm 1.76**
Polysaccharide fraction	100	6	3.02 \pm 0.08*	2.80 \pm 0.29*	2.25 \pm 0.30		17.19 \pm 1.38*
	200	6	2.88 \pm 0.40*	2.76 \pm 0.48**	1.69 \pm 0.51*		16.31 \pm 1.95*
Protein fraction	100	6	3.77 \pm 0.63	4.88 \pm 0.51	1.58 \pm 0.30**		22.60 \pm 2.61
	200	6	3.93 \pm 1.00	4.76 \pm 0.39	2.03 \pm 0.14*		24.10 \pm 2.30
Prednisolone	10	6	2.41 \pm 0.52**	2.44 \pm 0.54**	2.21 \pm 0.50*		18.49 \pm 1.17*
	20	6	2.19 \pm 0.44**	2.04 \pm 0.16**	2.14 \pm 0.27*		17.23 \pm 1.22*

1, 2) All abbreviations are same as Table III.

Each values represents the mean \pm S.E.

Significantly different from control. (*; $p < 0.05$ and **; $p <$

Table V—Effect of *Allolobophora caliginosatrapezoides* extracts, polysaccharide and protein fractions on the cell-mediated immunity in the oxazolone-sensitized rats.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Swelling(%) ²⁾			
			24 hr	48 hr	72 hr	120 hr
Control	—	6	5.62 \pm 1.98	9.88 \pm 2.32	7.28 \pm 1.69	8.26 \pm 1.66
Ether extract	100	6	5.23 \pm 1.66	9.58 \pm 1.18	6.71 \pm 1.52*	7.92 \pm 1.02*
	200	6	5.08 \pm 1.13*	8.88 \pm 0.97*	6.31 \pm 0.40*	7.17 \pm 1.17*
Methanol extract	100	6	4.86 \pm 1.72*	8.13 \pm 1.43*	5.88 \pm 1.16*	7.49 \pm 1.03*
	200	6	1.17 \pm 0.80**	7.33 \pm 1.65*	4.65 \pm 1.02**	6.69 \pm 1.55**
Polysaccharide fraction	100	6	5.01 \pm 1.83	9.64 \pm 1.54	7.19 \pm 1.73	9.03 \pm 2.17
	200	6	3.79 \pm 0.47**	7.03 \pm 1.72*	6.23 \pm 1.39*	7.32 \pm 2.09*
Protein fraction	100	6	5.82 \pm 1.17	8.03 \pm 1.28*	12.03 \pm 1.29	13.17 \pm 2.15
	200	6	8.75 \pm 0.18	11.78 \pm 2.80	14.22 \pm 0.50	15.48 \pm 1.48
Prednisolone	10	6	4.98 \pm 1.88	8.83 \pm 1.06*	7.24 \pm 1.08	7.95 \pm 1.15*
	20	6	4.91 \pm 0.79*	8.09 \pm 1.58*	7.14 \pm 0.46*	7.70 \pm 1.74*

1) Drugs were orally administered for 9 days from day 1 to 9

2) Animals were sensitized by applying with 50 μ l of a 10% oxazolone in acetone to shaved right flank, and on day 9, challenged by applying to the dorsal of the right ear with 10 μ l of 1% oxazolone in acetone solution. Each values are the means of increase (%) with standard errors.

Significantly different from control. (*; $p < 0.05$ and **; $p <$

다 낮았다.

과민반응억제작용

Arthus 반응억제작용—면양적혈구로 감작시킨 mouse에 다시 면양적혈구를 축적피하에 주사하여, 재감작시킨 후 제 4시간째에 Arthus 반응³⁰⁾으로 나타나는 축적부종이 구인다당체분획 및 에텔엑스 100 및 200 mg/kg 투여로 각각 용량의존적으로 유의성있게 억제되었으며, 또 구인메탄올엑스 200 mg/kg 투

여군과 단백질분획 100 mg/kg 투여군에서도 축적부종이 유의성있게 억제되었다(Table III). 특히 구인타당체 분획은 prednisolone의 1/10 이상의 강한 부종억제력이 있음을 보여주었다.

지연형과민반응억제작용—면양적혈구로 mouse에 재감작시킨 후 제 12시간째에 지연형과민반응³⁰⁾으로 나타나는 축적부종을 구인다당체분획과 에텔엑스 100 및 200 mg/kg을 투여했을 때 각각 유의성있게 용량의

존적으로 억제되었으며, 또 메탄올엑스 200 mg/kg 투여군에서도 즉부종이 유의성있게 억제되었다(Table III). 다당체분획의 지연형과민반응억제작용은 prednisolone의 약 1/10 정도였다.

체액성면역억제작용—B-cell이 관여하는 Arthus 반응이 구인다당체분획 및 메탄올엑스 100 및 200 mg/kg 투여로 용량의존적으로 억제되었을 뿐만 아니라 체액성면역의 과민반응으로 상승²⁶⁾된 응집소가(HA titer), 용혈소가(HY titer) 및 용혈반형성세포수(PFC)가 유의성있게 용량의존적으로 저하되므로써 체액성면역반응이 억제되고 있음을 보여주었다(Table IV).

세포성면역억제작용—구인다당체분획 100 및 200 mg/kg 투여군에서 T-cell이 관여하여 나타나는 지연형과민반응이 용량의존적으로 억제되었을 뿐만 아니라 T-cell을 자극하여 나타나는 oxazolone 피부염²⁸⁾이 구인메탄올엑스 100 및 200 mg/kg 투여군과 다당체분획 및 에텔엑스 200 mg/kg 투여군에서 각각 유의성있게 억제되었고(Table V), 또 면양적혈구로 재감작시킨 mouse에서 상승된 rosette 형성세포수가 유의성있게 억제되므로써(Table IV) 구인다당체분획은 세포성 면역반응을 억제하고 있음을 보여주었다.

이상과 같은 실험결과로 보아 구인다당체분획은 carrageenin 유발염증과 초산유발 writhing syndrome을 용량의존적으로 유의성있게 억제하므로써 소염·진통작용이 있었다. 또 다당체분획은 면양적혈구로 재감작시킨 mouse의 Arthus 반응과 지연형과민반응을 유의성있게 용량의존적으로 억제할 뿐만 아니라 적혈구응집소가, 용혈소가, 용혈반형성세포수, rosette 형성세포수를 유의성있게 용량의존적으로 감소시켰고, 또 oxazolone 유발피부염을 유의성있게 억제함으로써 체액성 및 세포성면역반응억제작용이 있음을 보여주었다.

한편 구인의 약효성분은 다당체분획 뿐만 아니라 메탄올엑스에서도 유의성있는 소염·진통 및 과민반응억제작용이 있는 약리활성 성분이 존재함을 보여주었고, 또 에텔엑스에도 진통 및 과민반응억제작용이 있는 약효성분이 있음을 보여주었다.

결 론

구인의 다당체 및 단백분획과 메탄올 및 에테르엑

스가 염증 및 과민반응에 미치는 영향에 관하여 동물 model에서 실험한 결과는 다음과 같았다.

구인다당체분획은 carrageenin 유발염증과 초산유발 writhing syndrome을 유의성있게 억제함으로써 소염·진통작용이 있음을 보여주었다. 또 구인다당체분획은 면양적혈구로 재감작시킨 mouse에서 나타나는 Arthus 반응과 적혈구응집소가, 용혈소가 및 용혈반형성세포수를 유의성있게 억제하므로써 체액성면역반응억제작용이 있음을 보여주었으며, 또 구인다당체분획은 oxazolone 유발피부염 뿐만 아니라 면양적혈구 재감작으로 일어나는 지연형과민반응과 rosette 형성세포수를 억제함으로써 세포성면역반응억제작용도 있음을 보여주었다. 또한 구인의 소염·진통 및 과민반응억제작용이 있는 약효성분은 메탄올 및 에테르엑스에도 존재하고 있음을 보여주었다.

문 헌

- 1) 難波恒雄：原色和漢藥圖鑑(下), 保育社, 東京, p. 253(1980).
- 2) 赤松金芳：和漢藥, 醫齒藥生版株式會社, 東京, p. 298(1970).
- 3) 八木精一：溶血物質 lumbricin, 京醫書 8, 258(1911).
- 4) Roch, P., Dauant, N. and Lascegues, M. : Isolation of agglutinins from lysins in earthworm coelomic fluid by gel filtration followed by chromatofocusing. *J. Chromatogr.* 290, 231(1984).
- 5) Hansen, R.P. and Czochanska, Z. : Earthworm lipid. Occurrence of phytanic, pristanic and 4,8,12-trimethyltridecanoic acids. *Lipids* 9, 825(1974).
- 6) Cortez, J. and Bouche, M. : Chemical composition of epidermal mucus from *Allolobophora chaetophora chaetophora* (Oligochaeta : Lumbricidae). *C. R. Acad. Sci. Ser. 3*, 305, 207(1987).
- 7) Lee, Y.C. and Lang, D. : D-Galactose di- and trisaccharides from the earthworm *Wticle* collagen. *J. Biol. Chem.* 243, 677(1967).
- 8) Muir, L. and Lee, Y.C. : Structures of the D-galactose oligosaccharides from earthworm cuticle collagen. *J. Biol. Chem.* 244, 2343(1969).
- 9) Garlick, R.L. and Riggs, A.F. : The amino acid sequence of a major polypeptide chain of earthworm

- lemoplobin. *J. Biol. Chem.* **257**, 9005(1982).
- 10) Oeien, N. and Stenersen, J. : Esterases of earthworm III, Electrophoresis reveals that *Eisenia fetida* is two species. *Comp. Pharmacol. Toxicol.* **78C**, 277(1984).
 - 11) Orlacchio, A., Emiliani, C., Maflei, C. and Beccari, T. isolation of β -hexosaminidase isoenzymes from annelids by phenyl boronate agarose chromatography. *Cell. Mol. Biol.* **31**, 163(1985).
 - 12) Ordacchio, A., Beccari, T., Maffei, C., Principato, G.B. and Giovannini, E. : Isoenzymes separation by chromatofocusing and kinetic properties of β -hexoaminidase from *Spirographis spallanzanii*, *Alolobophora caliginosa* and *Hirudo medicinalis*. *Comp. Biochem.* **80B**, 923(1985).
 - 13) Yoneda, T., Soeda, M., Suzuki, Y., Moriyama, S., Sumi, H. and Mihara H. : Isolation of 2-ethyl-5-hexylfuran-3-sulfonic acid from earthworms as a pharmaceutical. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho JP* 63 005088 [88 05, 088], (1986).
 - 14) Lassegues, M., Roch, P., Cadoret, M.A. and Valembouis, P. : Demonstration of hemolysis and hemagglutination by specific protein to cocoon albumin of the lumbricid *Eisenia fetida andrei*. *C. R. Acad. Sci. Ser. 3* **299**, 691(1984).
 - 15) Hori, M., Kondo, K., Yoshida, T., Konishi, E. and Minami, S. : Studies of antipyretic components in the Japanese earthworm. *Biochem. Pharmacol.* **23**, 1583(1974).
 - 16) Kim, Y.E., Lee, W.K., Lee, C.S. and Yoon, H.J. : Studies of antipyretic components of the earthworm. *Yakhak Hoeji* **25**, 137(1981).
 - 17) Roch, P.G. and Davant, N. : Rapid procedure for isolation of earthworm bacteriostatic factor isoforms using chromatofocusing. *J. Chromatogr.* **240**, 552(1982).
 - 18) Chung, Y. and Lee H.M. : Effect of earthworm (*Lamnodrilus gotai* Hatai) extract on the hepatotoxicity of carbon tetrachloride in rats. *Yakhak Hoeji* **33**, 101(1989).
 - 19) Winter, C.A., Risley, E.A. and Nuss, C.W. : Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**, 544(1962).
 - 20) Whittle, B.A. : The use of change in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and non-narcotics. *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 246(1964).
 - 21) Ahn, Y.K. and Kim, J.Y. : Effect of dietary fat on the immunotoxic of chloramphenicol. *J. Pharmaceut. Soc.* **29**, 55(1985).
 - 22) Ha, T.Y. and Kim, K.K. : Effect of cyclophosphamide administration after stimulation with PHA on immune response in mice. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **14**, 71(1979).
 - 23) Ha, T.Y. and Kim, H.J. : Depression of immune response by new castle disease virus infection. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **14**, 79(1979).
 - 24) Moorhead, J.W. : Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice, VIII. Identification of distinct T cell subpopulation that mediate *in vivo* manifestations of delayed hypersensitivity. *J. Immunol.* **120**, 137(1978).
 - 25) Ha, T.Y. and Rhee, H.K. : Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **16**, 57(1981).
 - 26) Jerne, N.K. and Nordin, A.A. : Plaque forming in agar by single antibody-producing cells. *Science* **140**, 405(1963).
 - 27) Nakashima, S., Sakai, Y., Umeda, Y. and Takatsu, K. : Studies on delayed hypersensitivity to protein antigen. Antigen-specific suppression of delayed hypersensitivity by chemically modified antigen. *Microbiol. Immunol.* **23**, 105(1979).
 - 28) Kishore, M., Latman, N., Roberts, D.W., Barnett, J.B. and Sorensen, J.R.J. : Effect of nutritional copper deficiency on adjuvant arthritis and immunocompetence in the rat. *Agent and action* **140**, 274(1985).
 - 29) Di Rosa, M., Giroud, J.P. and Willoughby, D.A. : Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenin and turpentine. *J. Path.* **104**, 15(1971).
 - 30) Kim, C.J. and Chung, J.M. : Pharmacological activities of flavonoids(I). Relationships of chemical structure of flavonoids and their inhibitory activity of hypersensitivities. *Yakhak Hoeji* **34**, 348(1990).