

동물성 소염진통제(II)

— 반묘 및 먹가래 다당체분획의 소염·진통 및 면역조절작용 —

김창중·최충식·조승길

중앙대학교 약학대학

(Received July 16, 1991)

Anti-inflammatory Agents from Animals(II)

— Anti-inflammatory, Analgesic and Immunoregulatory Activities of
Mylabris sidae and *Epicauta gorhami* Polysaccharide Fractions —

Chang-Johng Kim, Choong-Sik Choi and Seung Kil Cho
College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide fractions on the inflammation and immune responses were studied *in vivo*. MS and EG contained cantharidin about 0.61 and 0.65%, respectively. It was shown that MS and EG polysaccharide fractions at a oral dose of 100 mg/kg have the significant anti-inflammatory and analgesic activity; They inhibited significantly the carrageenin-induced inflammation and acetic acid-induced writhing syndrome. They accelerated significantly the carbon clearance and the phagocytosis of colloidal carbons by Kupffer cells in liver, but they at a oral dose of 100 mg/kg suppressed significantly the Arthus reaction in the sheep red blood cell(S-RBC)-sensitized mice in accordance with the inhibition of haemagglutinin titer, haemolysin titer and plaque-forming cells. On the other hand, they at a oral dose of 200 mg/kg accelerated slightly the oxazolone-induced dermatitis in rats and delayed hypersensitivity in the S-RBC-challenged mice in consistent with the increase of rosette forming cells. As the above results, it exhibited that MS and EG polysaccharide fractions inhibited the humoral immune responses, but they accelerated the function of macrophages and cellular immune responses. EG polysaccharide fraction had more active than MS polysaccharide fraction.

Keywords □ *Mylabris sidae*, *Epicauta gorhami*, polysaccharide fractions, anti-inflammatory and analgesic activity, antihypersensitivities, carbon clearance, Kupffer cell phagocytosis, S-RBC or oxazolone-induced hypersensitivity.

반묘(*Cantharis*)¹⁾는 가래과(Meloidae)에 속하는 총채로서 *Mylabris*속 중 중국산인 남방대반묘(*Mylabris sidae* Fabr.)와 황흑소반묘(*Mylabris cichorii* L.) 두 종이 주로 외용제(K.P. II)로 쓰여왔으나 우리나라 경기도 파주군에서는 가래과에 속하는 먹가래(*Epicauta gorhami* M.)²⁾가 반묘의 대용품으로 쓰이고 있다. 반묘는 민간요법이나 임상에서 분말로나 주침하여 피부질환(피부염, 전선, 원형탈모증)이나 신경질환(안면신경마비, 신경성피부염, 류마티스성신경통 등), 감염질환(입질, 입파선염 등), 자상(관견병), 암

종(사마귀의 부식) 등에 사용^{3,4)}되어 왔는데 이들은 주로 반묘에 함유되어 있는 유독성인 cantharidin³⁾에 기인된다고 보고되었을 뿐이다.

Cantharidin은 기염작용⁵⁻⁸⁾이 있다고 보고되었으며, Schawley 등⁹⁾은 cantharidin이 말에서 혈중의 칼슘, 마그네슘, 단백 및 creatinine 농도와 kinase 활성, 동맥산소분압, 탄산가스분압을 저하시킨다고 보고하였으며, Pinetti 등¹⁰⁾은 cantharidin이 원형탈모증에서 항진균작용이 있다고 보고하였다. 또 cantharidin이 항암작용이 있어 합성품의 개발을 시도하

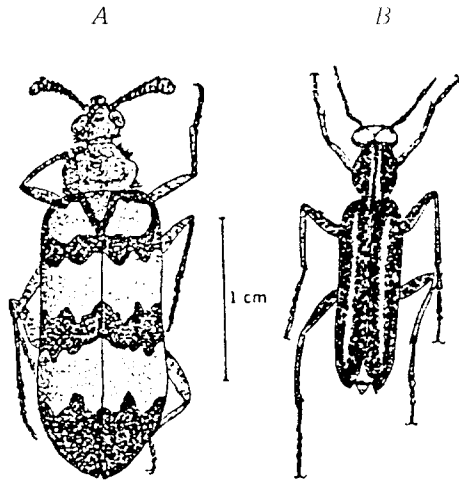


Fig. 1—A. *Mylabris sidae* Fab., B. *Epicauta gorhami* Mar.

였으며,¹¹⁻¹⁷⁾ Baranger¹⁸⁾는 임파종에서의 항암작용은 cantharidin의 투여량을 조절하므로서 동독요법(homeopathy)이 가능하다고 보고하였다. 이상과 같이 반묘의 약리작용은 주로 cantharidin에 의한다고 보고되었을 뿐 다른 성분에 대한 생리활성에 대하여는 연구된 바 없었다.

따라서 저자는 중국산 남방대반묘와 우리나라산 먹가래의 cantharidin 함량과 항염작용을 비교하고 약리효능성분을 검색하고자 다당체분획을 분리하여 동물모델에서 실험한 결과 항염·진통 및 면역조절작용이 있었기에 보고한다.

실험방법

재료—반묘(*Mylabris sidae*)는 1988년 3월에 서울 경동시장에서 구입하였고, 먹가래(*Epicauta gorhami*)는 1988년 7월에 경기도 파주군 적성면 상진리 야산(민통선부근)에서 채집하여 음건한 후 분말로 하여 실험재료로 하였다(Fig. 1).

시약—Guinea pig complement와 면양적혈구(S-RBC)는 국립보건원, carrageenin과 oxazolone, tryphan blue는 Sigma Co.(미국), carbon black은 Pilot Co.(한국)에서 각각 구입하여 사용하였다. 대조약물로 사용한 prednisolone acetate와 chlorpheniramine maleate, aspirin, aminophyrine 등은 각각 Roussel Uclaf Co.(미국), 친화화공(일본), Bayer Co.(서독)

및 E. Merck Co.(서독)에서 각각 구입하여 사용하였다.

동물—일정한 조건하에서 사육한 외견상 건강한 체중 160±20g의 S-D계 흰쥐(웅성)와 체중 16±2g의 ICR계 mouse(웅성)를 실험전 13시간 절식시킨 후 사용하였다.

다당체분획의 추출—반묘 1kg 및 먹가래 300g을 각각 separatory funnel에 취하여 Scheme 1에 따라 추출하여 다당체분획을 각각 8.3 및 2.9g을 얻었다(Scheme 1).

염증유발—Carrageenin 염증유발은 Winter법¹⁹⁾에 따라 전보²⁰⁾와 같이 실험하여 족부종울을 용적법에 따라 매시간마다 4시간 동안 측정하였다.

진통작용—Whittle법²¹⁾에 따라 전보²⁰⁾와 같이 초산유발 writhing syndrome수를 측정하였다.

Carbon clearance 측정—Freedman법²²⁾에 따라 다음과 같이 측정하였다. 웅성 ICR계 마우스(체중 16±2g) 9마리를 1군으로 하여 반묘 및 먹가래 다당체분획 50, 100, 200 mg/kg을 각각 경구투여하고 1시간 후 carbon suspension(Pilot drawing ink 3ml + saline 8ml + 3% gelatin 3ml)을 0.1ml씩 꼬리정맥에 주사하고 5, 10 및 15분 후 각각 안와정맥총에서 heparinized hematocrit용 모세관으로 혈액을 채취하여 0.1% 탄산나트륨용액에 현탁시켜 각각 spectrophotometer로 파장 675 nm에서 흡광도를 측정하고 다음과 같이 carbon clearance(반감기)를 산출하였다. 대조약물로는 prednisolone acetate 10 및 20 mg/kg을 경구투여하였다.

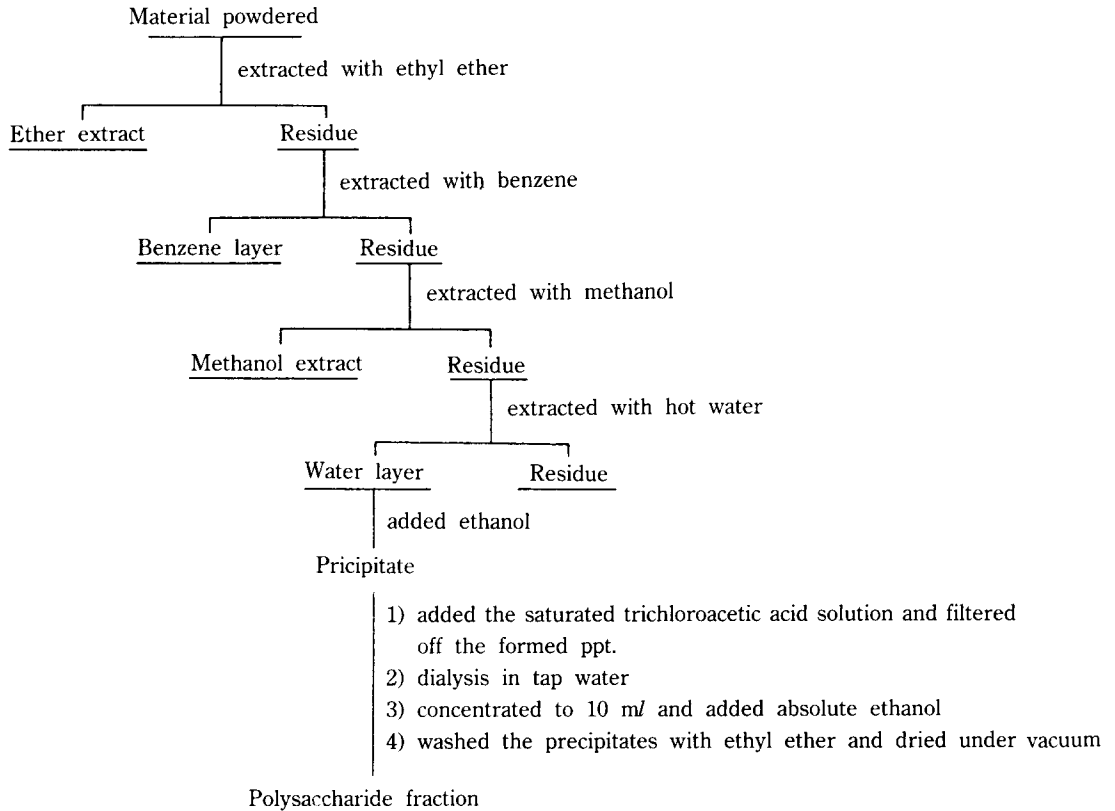
$$\text{Carbon clearance}(t_{1/2}) = \frac{(t_2 - t_1)1/2ODt_2}{ODt_1 - ODt_2}$$

t₁ : 5 mins ODt₁ · t₁의 흡광도

t₂ : 10 또는 15 mins ODt₂ : t₂의 흡광도

Kupffer cell의 탐식능측정—Carbon clearance 실험 후 실험동물에서 절취한 간을 10% formalin에 고정하고 hematoxylin-eosin 용액으로 중부염색한 후 검경하여 탐식한 Kupffer cell수(per mm²)를 산출하였다.²³⁾

면양적혈구 감작과민반응유발—면양적혈구를 항원으로 전보²⁰⁾와 같이 Arthus 반응(제 3형과민반응)과 지연형과민반응을 일으켜 족부종을 일으킨 후 부종을 측정하고, 채혈하여 혈청을 얻어 전보²⁾와 같이



Scheme 1—Fractionation of polysaccharide fraction from *Mylabris sidae* and *Epicauta gorhami*.

용혈소가, 응집소가, 용혈반형성세포수 및 Rosette 형성세포수를 측정하였다.

Oxazolone 과민반응유발—Kishore 등²⁴⁾의 방법에 따라 전보²⁰⁾에서와 같이 oxazolone 도포 후 귀의 부종율을 측정하였다.

Cantharidin 정량—반묘 및 먹가래 분말을 24시간 건조한 후 9g씩을 각각 정밀히 달아 각각 separatory funnel에 옮기고 클로로포름 15 ml와 염산 1 ml를 각각 넣어 혼합하여 24시간 방치한 다음 에틸 60 ml를 가해 5분간 진탕한 후 30분간 방치하고 여과한다. 이 여액에서 용매를 증류한 후 잔류물에 석유에틸과 무수에탄올혼액(19 : 10) 30 ml를 가해 진탕혼화 후 24시간 방치하여 탈지면으로 여과하고 잔유물을 다시 위의 용매로 4회 세척하고 남은 결정을 클로로포름 5 ml를 가해 용해시켜 증량까지의 플라스크에 넣고 증발건고하고 24시간 동안 데시케이터에서 건조하여 정량을 측정하였다.^{2,24)}

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

결과 및 고찰

항염작용—흰쥐에 기염제인 carrageenin을 족피하에 주사한 후 1, 2, 3 및 4시간째에 대조군에서는 족부종율이 각각 30.02, 50.44, 60.69 및 63.19%였으나 반묘 및 먹가래 다당체 100 및 200 mg/kg 투여로 각각 유의성있게 억제되므로써 용량의존적인 항염작용이 있음을 보여주었다. 그러나 이들의 항염작용은 prednisolone acetate 10 mg/kg 및 aspirin 80 mg/kg 투여군보다 약하였다(Table I). Di Rosa 등²⁵⁾에 의하면 carrageenin 유발염증은 1시간까지는 histamine과 serotonin, 2.5시간까지는 kinin류, 2.5시간 이후에는 prostaglandin이 염증매개물로 작용한다고 보고하였던 바 이들 다당체분획들이 1~4시간에 유의성있는

Table I—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide fractions on the carrageenin-induced paw edema in rats.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	Swelling (%) ²⁾			
		1 hr	2 hr	3 hr	4 hr
Control	—	39.02± 4.76	50.44± 4.58	60.69± 4.76	63.19± 5.31
MS polysaccharide	50	33.75± 4.63	43.34± 4.55	46.46± 4.45	53.41± 4.23
	100	26.61± 4.05*	31.71± 4.21*	38.42± 3.70*	46.69± 4.15
	200	21.47± 2.25**	29.23± 1.97**	34.26± 1.37*	39.96± 2.66*
EG polysaccharide	50	29.45± 3.25	42.36± 3.75	44.32± 4.20	51.25± 4.55
	100	25.65± 4.21*	30.92± 3.33*	37.46± 3.62*	46.50± 5.21
	200	21.25± 2.25**	28.65± 2.55**	34.55± 2.55*	38.25± 3.95*
Prednisolone acetate	10	20.99± 2.53**	25.57± 1.26**	28.52± 2.34**	32.29± 3.35**
Aspirin	80	25.29± 3.44*	30.94± 3.69*	35.27± 2.84*	40.64± 4.27*

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

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

Each value represents the mean± S.E. from ten rats.

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

Table II—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide fractions on the HAc-induced writhing syndrome in mice.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	No. of writhing ²⁾ for 10 mins.	Inhibition (%)
MS polysaccharide	50	6	30.6± 3.1	6.7
	100	6	24.3± 2.7*	25.9
	200	6	20.6± 2.6**	37.2
EG polysaccharide	50	6	29.7± 4.1	9.5
	100	6	23.6± 2.5*	28.1
	200	6	19.8± 2.9**	39.6
Aminopyrine	50	6	16.6± 2.0*	49.4

1) Male mice were orally treated with test durgs 1 hour before the i.p. injection of 0.7% HAc solution at a dose 10 mg/kg.

2) No. of writhing syndrome was counted 10 minutes after injection of HAc for 10 minutes.

Each value represents the mean± S.E.

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

항염작용이 있는 것으로 보아 이들 염증매개물의 방출을 억제하는 것으로 사료된다.

진통작용—0.7% 초산생리식염액을 mouse 복강에 주사하여 발생하는 writhing syndrome이 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 및 200 mg/kg 투여로 각각 유의성있게 억제되므로서 이들은 용량의존적인 진통작용이 있음을 보여주었다(Table II). 그러나 이들의 효능은 aminopyrine 50 mg/kg 투여군보다 낮았다.

탄소입자의 혈중청소율 및 Kupffer cell 탐식촉진 작용—콜로이드성 탄소입자를 정맥주사한 후 청소율($t_{1/2}$)이 반묘 및 먹가래 다당체 100 mg/kg 투여로

대조군에 비하여 용량의존적으로 촉진되었으며, 간의 Kupffer cell의 탐식능도 같은 양상으로 촉진되었다(Table III). 이와같은 결과로 보아 이들 다당체분획들이 거핵구의 탐식능을 촉진하여 청소율이 빨라진 것으로 사료된다.

Arthus 반응 억제작용—면역적혈구로 mouse를 재감작시켜 4시간째에 Arthus 반응²⁶⁾으로 나타나는 즉척부종이 반묘 및 먹가래 다당체 100 및 200 mg/kg 투여로 각각 용량의존적으로 유의성있게 억제되었다(Table IV). 그들의 효능은 chlorpheniramine maleate 20 mg/kg 투여군보다 강하였고, prednisolone

Table III—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide fractions on the carbon clearance and phagocytic activity by Kupffer cells in mice.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Carbon clearance ²⁾ (t _{1/2} , min)	No. of Kupffer cells phagocytized ³⁾ (per mm ²)
Control	—	9	19.83±1.07	93.50±5.50
MS polysaccharide	50	9	15.30±1.76	109.30±4.57
	100	9	13.34±1.04*	113.80±7.61*
	200	9	9.53±0.78**	138.50±4.37**
EG polysaccharide	50	9	16.20±2.11	98.45±4.25
	100	9	12.91±1.21*	119.32±5.62*
	200	9	10.01±1.05*	141.25±5.75**
Prednisolone acetate	10	9	21.33±1.70	92.00±6.57
	20	9	23.60±1.72	84.50±6.72

1) Male mice were orally treated with test drugs 1 hour before the i.v. injection of carbon suspension (Pilot drawing ink 3 ml + saline 8 ml + 3% gelatin 3 ml) at a dose of 0.1 ml/10g.

2) Carbon clearance calculated as follows;

$$\text{Carbon clearance (t}_{1/2}\text{)} = \frac{(t_2 - t_1)1/2ODt_2}{ODt_1 - ODt_2}$$

t₁ and t₂ represent 5 and 10 or 15 minutes respectively after the injection of carbon suspension, and OD_{t₁} and OD_{t₂} are their optical density at that time.

3) Carbon-phagocytized Kupffer cells were microscopically counted by H & E staining.

Each value represents the mean±S.E. from 9 mice.

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

Table IV—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide 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 hours after challenge ²⁾	Delayed hypersensitivity at 24 hours after challenge ²⁾
Control	—	6	23.54±2.82	20.97±3.06
MS polysaccharide	50	6	21.25±4.95	21.76±2.84
	100	6	14.50±2.32*	23.18±2.23
	200	6	12.65±1.49**	24.13±2.46
EG polysaccharide	50	6	20.55±3.75	21.45±2.96
	100	6	13.85±2.45*	22.56±3.45
	200	6	11.25±2.29**	24.25±3.26
Prednisolone acetate	10	6	18.50±2.41*	17.84±3.08
	20	6	13.12±2.78**	11.48±3.23*
Chlorpheniramine maleate	10	6	19.56±4.15	18.06±3.28
	20	6	18.68±2.99*	16.06±3.15

1) Drugs were orally administered for 4 days from Day 1 to 4.

2) Animals were sensitized with 10⁶ S-RBC intravenously and at Day 4, given a challenge with s.c. injection of 10⁸ S-RBC.

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

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

acetate 효능의 1/10 이상의 강한 부종억제력이 있음을 보여주었다.

지연형과민반응억제작용—면양적혈구를 mouse에

재감작시킨 후 제 24시간째에 지연형과민반응²⁶⁾으로 나타나는 족척부종을 prednisolone acetate 20 mg/kg 투여때 유의성있게 억제되었지만 반묘 및 먹기래 다

Table V—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide fractions on the immune response in the S-RBC-sensitized mice.

Drugs ¹⁾	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	HA titer ²⁾	HY titer ²⁾	PFC ²⁾	RFC ²⁾
					($\times 10^3/10^6$ spleen cell)	(%)
Control	—	6	4.92±0.16	5.99±0.27	3.73±0.41	22.42±3.86
MS polysaccharide	50	6	3.79±0.43	3.51±0.52	2.77±0.26	22.65±3.38
	100	6	2.24±0.43*	2.42±0.49*	1.86±0.14*	26.00±2.06
	200	6	2.13±0.34*	2.15±0.60**	1.52±0.32**	31.86±1.22*
EG polysaccharide	50	6	3.65±0.35	3.41±0.62	2.59±0.27	22.62±2.25
	100	6	2.21±0.42*	2.35±0.55*	1.75±0.19*	25.62±2.46
	200	6	2.09±0.25*	2.01±0.45*	1.45±0.21*	29.76±2.11*
Prednisolone acetate	10	6	2.41±0.52*	2.44±0.54*	2.21±0.50*	18.49±1.17*
	20	6	2.18±0.44**	2.04±0.16**	2.14±0.27*	17.23±1.22*

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

Each value represents the mean±S.E.

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

Table VI—Effect of *Mylabris sidae*(MS) and *Epicauta gorhami*(EG) polysaccharide 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±1.98	9.88±2.32	7.28±1.69	8.26±1.66
MS polysaccharide	50	6	6.89±2.86	10.22±3.87	7.84±2.81	9.35±2.26
	100	6	7.84±2.68*	16.06±2.58*	11.45±3.01	14.61±1.66*
	200	6	12.65±2.58*	23.31±1.72**	17.46±2.81**	20.83±1.51**
EG polysaccharide	50	6	7.11±2.42	10.95±2.95	8.11±1.95	9.55±2.42
	100	6	8.00±2.11*	17.05±3.05*	11.21±2.15	15.05±3.11*
	200	6	11.95±2.95**	22.92±2.45	16.94±3.41**	21.11±2.25**
Prednisolone acetate	10	6	4.98±1.88	8.83±1.06*	7.64±1.08	8.05±1.15*
	20	6	4.91±0.79*	8.09±1.58*	7.14±1.46*	7.70±1.74*

1) Drugs were orally administered for 9 days from Day 1 to 9.

2) Animals were sensitized by applying 50 μ l of a 10% oxazolone in acetone to the shaved right flank and at Day 9, given a challenge by applying to the dorsal surface of the right ear with 10 μ l of 1% oxazolone in acetone solution.

Each value represents the means of increase (%) with standard error.

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

다당체분획을 투여할 때 촉진되는 경향을 보였지만 유의성은 없었다.

체액성면역억제작용—B-cell이 관여하는 Arthus 반응이 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 mg/kg 투여로 용량의존적으로 억제되었을 뿐만 아니라 체액성면역의 과민반응으로 상승된 응집소가(HA titer),²⁷⁾ 용혈소가(HY titer)²⁷⁾ 및 용혈반형성세포수(PFC)²⁸⁾가 유의성있게 용량의존적으로 억제되므로써 체액성면역반응이 억제되고 있음을 보여주었다(Table V).

세포성면역반응—T-cell이 관여하는 지연형과민반

응²⁹⁾이 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 mg/kg 투여로 용량의존적으로 촉진되는 경향을 보여주었을 뿐만 아니라 T-cell을 자극하여 나타나는 oxazolone 피부염³⁰⁾도 이들 다당체분획 투여로 각각 용량의존적으로 촉진되었고(Table VI), 또 면양적혈구로 재감작시킨 mouse에서 상승된 rosette 형성세포수가 유의성있게 용량의존적으로 상승되므로써(Table V) 이들 다당체분획들은 세포성면역촉진작용이 있음을 보여주었다.

Cantharidin 함량—반묘와 먹가래에서 중량법에 의하여 cantharidin을 정량한 결과 각각 0.61 및 0.65%

함유되었다.

이상과 같은 결과로 보아 가래과에 속하는 반묘와 먹가래는 유독물질인 cantharidin 함량이 비슷하며, 이들의 다당체분획들은 carrageenin 유발염증과 초산유발 writhing syndrome을 용량의존적으로 유의성 있게 억제하므로써 소염·진통작용이 있었다. 한편 이러한 실험결과는 Fujiwara 등³¹⁾에 의하여 곤충(*Melissa azadirachta*)에서 항염작용성분이 다당체라고 주장하는 결과와 일치하였다. 이들 다당체분획들은 carbon clearance와 Kupffer cell 탐식을 촉진하였고, Arthus 반응 뿐만 아니라 응집소가, 용혈소가, 용혈반형성세포수를 용량의존적으로 억제한 반면 지연형과민반응과 rosette 형성세포수를 유의성있게 증가시킨 것으로 보아 거핵구를 자극하여 체액성면역반응은 촉진시켰지만, 세포성면역반응은 억제되고 있음을 보여주었다.

결 론

반묘 및 먹가래 다당체분획이 염증 및 과민반응에 미치는 영향에 관하여 동물 model에서 *in vivo*로 시험한 결과는 다음과 같았다.

1. 반묘와 먹가래에는 cantharidin이 각각 0.61 및 0.65% 함유되어 있었다.

2. 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 mg/kg 투여로 각각 carrageenin 유발염증과 초산유발 writhing syndrome을 유의성있게 용량의존적으로 억제하므로써 소염·진통작용이 있음을 보여주었다.

3. 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 mg/kg 투여로 각각 carbon clearance 및 Kupffer cell의 탐식능을 촉진하므로써 거핵구자극작용이 있음을 보여주었다.

4. 반묘 및 먹가래 다당체분획 100 mg/kg 투여로 각각 면양적혈구로 재감작시킨 mouse에서 나타나는 Arthus 반응과 상승된 응집소가, 용혈소가, 용혈반형성세포수가 유의성있게 용량의존적으로 억제되므로써 체액성면역억제작용이 있음을 보여주었다.

5. 반묘 및 먹가래 다당체분획 200 mg/kg 투여로 각각 면양적혈구나 oxazolone으로 재감작시킨 mouse에서 나타나는 지연형과민반응과 rosette 형성세포수를 각각 유의성있게 증가시키므로써 세포성면역촉진 작용이 있음을 보여주었다.

6. 다당체분획의 효능으로 보아 반묘대용품으로

먹가래를 사용할 수 있음을 보여주었다.

문 헌

- 1) 中國葯用動物誌協作組：中國葯用動物誌，第1集，天津科學技術出版社，天津，pp.98-101(1979).
- 2) Inagaki, K., Nunome, S. and Namba, T.: Pharmacognostical studied on the chinese crude drugs derived from insects(II). *Shoyakugaku Zasshi* **37**, 255(1983).
- 3) 小學館：中藥大辭典，上海科學技術出版社，pp.2196-2198(1985).
- 4) 難波恒雄：原色和韓藥圖鑑(下)，保育社，pp.335-338(1980).
- 5) Boris, A.: Assessment of topical anti-inflammatory activity in rats with cantharidin-induced inflammation. *J. Invest. Dermatol.* **68**, 161(1977).
- 6) Tarayre, J.P.: Pharmacological study of cantharidin-induced ear inflammation in mice. *J. Pharmacol. Methods* **14**, 271(1984).
- 7) Swingle, K.F., Reiter, M.J. and Schwartzmiller, D. H.: Comparison of croton oil and cantharidin-induced inflammations of the mouse ear and their modification by topically applied drugs. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* **254**, 168(1981).
- 8) Laerum, O.D. and Inversen, O.H.: Reticuloses and epidermal tumors in hairless mice after topical skin applications of cantharidin and asiaticoside. *Cancer Res.* **32**, 1463(1972).
- 9) Shawley, R.V. and Rolf, L.L.: Experimental cantharidiasis in horse. *Am. J. Vet. Res.* **45**, 2261(1984).
- 10) Pinetti, P.: Antimycotic activity *in vitro* of some drugs which induce alopecia. Thallium acetate and cantharidin. *Rass. Med. Sarda* **70**, 875(1967).
- 11) Xu, B.: Pharmacology of some natural products of china. *Trends Pharmacol. Sci.* **2**, 271(1981).
- 12) Chen, R.T.: Studies on antitumor actions of cantharidin. *Chin. Med. J.* **93**, 183(1980).
- 13) Bin, X.: New results in pharmacologic research of some anticancer agents. Proc.-U.S.-China Pharmacol. Symp., p.151-188(1979).
- 14) Wang, K.S.: Anticancer effect of *mylabris* and its development. *Yao Hsueh Tung Pao* **15**, 23(1980).
- 15) Liu, J.Y.: Study on antitumor chemotherapeutic

- agents-synthesis of cantharidin derivatives. *Yao Hsueh Tung Pao* **15**, 271(1980).
- 16) Zhang, S.: Study on tumor chemotherapy-synthesis of cantharidin derivatives. *Yaouxue Xuebao* **16**, 784 (1981).
 - 17) Liu, J.Y.: Studies on the chemotherapy of tumors II. synthesis of cantharidin derivatives and analogs. *Yaouxue Xuebao* **18**, 752(1983).
 - 18) Baranger, P.: Homeopathic anticancer agents. Fr. M4785, 06 Mar 1967, Appl. 10 Jun, p.6(1965).
 - 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) Kim, C.J., Choi, Y.S. and Cho, S.K.: Anti-inflammatory agents from animals(I). Anti-inflammatory, analgesic and immunosuppressive activities of earthworm *Allolobophora caliginosatrapezoides*. *Yakhak Hoezi* **35**, 123(1991).
 - 21) Whittle, B.A.: The use of change in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotics. *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 246(1964).
 - 22) Freedman, H.H. and Ann, N.Y.: Studies on Moutan cortex. X. on the phagocytosis activity of the mouse reticuloendothelial system(I). *Yakugaku Zasshi* **105**, 31(1985).
 - 23) Kubo, M., Nagao, T., Matsuda, H., Tani, T., Arichi, S. and Kitagawa, I.: Studies on Moutan cortex. IX. on the phagocytosis activity of the mouse reticuloendothelial system(I), *Yakugaku Zasshi* **105**, 26(1985).
 - 24) 日本公定書協會編：日本藥局方(第7改正), 第2部解説書, 廣州書店, 東京, pp.145-147(1962).
 - 25) 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).
 - 26) Roitt, I.M., Brostoff, J. and Male, D.K.: Immunology, Gower Medical Publishing Ltd., London, pp. 211-219(1985).
 - 27) Ha, T.Y. and Rhee, H.K.: Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response. *J. Kor. Soc. Microbiol.* **16**, 57(1981).
 - 28) Jerne, N.K. and Nordin, A.A.: Plaque forming in agar by single antibody-producing cells. *Science* **140**, 405(1963).
 - 29) Moorhead, J.W.: Tolerance and contact sensitivity to DNFB in mice. VIII. identification of distinct T cell subpopulations that mediate *in vivo* and *in vitro* manifestations of delayed hypersensitivity. *J. Immunol.* **120**, 137(1978).
 - 30) 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).
 - 31) Fujiwara, T., Sugishita, E., Takeda, T., Ogihara, Y., Shimiju, M., Nomura, T. and Tomita, Y.: Further studies on the structure of polysaccharides from the bark of *Melia azadirachta*. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 1391(1984).