

산복사 줄기의 성분과 항염증 작용

최재수[#] · 양한석* · 이태웅* · 우원식** · 이은방**

부산수산대학교 식품영양학과, 부산대학교 약학대학*, 서울대학교 생약연구소**

(Received January 30, 1992)

Chemistry and Anti-inflammatory Activity of *Prunus davidiana* Stems

Jae Sue Choi[#], Han Suk Young*, Tae Woong Lee*
Won Sick Woo** and Eun Bang Lee**

[#]Dept. of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

*College of Pharmacy, Pusan National University, Pusan 608-735, Korea

**Natural Product Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract—The possibility as an anti-inflammatory drug of *Prunus davidiana* which have been used in Korean folk medicine for treatment of neuritis and rheumatism was investigated on carrageenin-induced paw edema in rats. The MeOH extract exhibited potent inhibitory effect on carrageenin-edema rats when topically applied. On the other hand, it did not show any effect when orally tested. It also had no influences on isolated ileum of guinea pig and anti-platelet aggregating activities. Thus, it appears from the present findings that the MeOH extract of *P. davidiana* may be utilizable only for the external treatment of inflamed sites. This study was also conducted to further isolation of flavonoids from the EtOAc soluble fraction and characterized as persiconin and isosakuranin by spectrometric analysis.

Keywords □ *Prunus davidiana*, Rosaceae, carrageenin-edema, anti-inflammatory drug, persiconin, isosakuranin, ¹³C-NMR.

저자 등¹⁻⁵⁾은 한국 민간약으로 부터 당뇨병 및 고지질혈증을 개선시키는 효과를 검색하는 과정에서 산복사나무(*Prunus davidiana*, Rosaceae) 줄기의 메탄올 엑스가 탁월한 효과를 나타냄을 발견하고 그 유효성분을 분리하고 작용메카니즘을 구명하 바 있다. 본 연구에 있어서는 산복사 나무줄기가 우리나라 민간에서 약화학적 및 약리학적 검토 자료없이 고전적인 기제 또는 경험에 의하여 신경통, 류마치스 치료제로 사용하고 있다는 사실을 중시하고 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통하여 정확한 생리활성에 대한 과학적인 검토자료를 제시하고자 하였으며 또한 화학적인 성분 연구를 계속하여 두가지의 flavanone 배당체를 분리

하고 그 구조를 결정하였으므로 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료—산복사 나무줄기는 부산시 평화시장에서 구입(부산대학교 약학대학 박종희 교수 감정)하여 실험에 사용하였다.

기기—용점은 Thomas Hoover 6406-H apparatus 로서 측정하였으며 보정하지 않았다. IR spectra는 Varian Techtron Model 635 spectrometer로서 KBr제정법으로서 측정하였으며 Mass spectrum은 Hewlett-Packard 5985 B GC/MS spectrometer (70 eV에서 작동)로 측정하였다. UV spectra는 CE 599 Universal automatic scanning spectrophotometer,

[#]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

^1H - 및 ^{13}C -NMR spectra는 Bruker AM-300 spectrometer (Chemical shift치는 TMS를 내부표준물질로 하여 δ_{ppm} 치로 나타내었음)로 측정하였다.

추출 및 분획—전보²⁾에 따라 행하였다. 즉 음건 세절한 산복사 나무줄기(2.2 kg)를 수용중에서 메탄올로 수회 추출한 후 용매를 감압하에서 제거하여 메탄올 건조엑스 140 g을 얻었다. 이 메탄올 엑스를 용매의 극성 증가순으로 CHCl_3 , EtOAc, BuOH, H_2O 가용부로 분획한 후 이들을 감압하에서 건조하여 분말을 얻었다.(각각 12g, 59g, 35g 및 30g)

화합물 I 및 화합물 II의 분리—EtOAc 가용부는 다시 silica gel 및 Sephadex LH-20(용매: MeOH) column chromatography를 행하여 이미 보고된 화합물²⁾ 이외에 화합물 I(수율: $1.7 \times 10^{-3}\%$)과 화합물 II(수율: $2.0 \times 10^{-5}\%$)를 순수하게 분리하였다.

화합물 I(5-glucosyl-3'-hydroxyl-7, 4'-dimethoxy flavanone, persiconin)⁶⁾의 성상—mp 250~60°, $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$; 3300(OH), 2900~2800(CH), 1650(α, β -unsaturated C=O), 1605, 1565, 1510(aromatic), 1440(CH_2), 1390, 1335(CH_3), 1100~1000(glycoside), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH}} \text{nm}(\log \epsilon)$; 229(4.84), 283(4.69), 320(sh., 4.07), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH} + \text{NaOMe}} \text{nm}$; 246(sh., 4.52), 283(dec., 4.59), 325(sh., 4.22), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH} + \text{AlCl}_3} \text{nm}$; 229(4.87), 284(4.61), 313(4.48), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH} + \text{AlCl}_3 + \text{HCl}} \text{nm}$; 228(4.86), 284(4.61), 310(sh., 4.45), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH} + \text{NaOAc}} \text{nm}$; 284(4.69), $\text{UV}\lambda_{\text{max}}^{\text{MeOH} + \text{NaOAc} + \text{H}_3\text{BO}_3} \text{nm}$; 284(4.70), ^1H -NMR(DMSO- d_6 + D_2O , TMS) δ ; 6.94(1H, d, J=1.7 Hz, H-2'), 6.93(1H, d, J=8.3 Hz, H-5'), 6.88(1H, dd, J=1.7&8.3 Hz, H-6'), 6.44(1H, d, J=2.2 Hz, H-8), 6.23(1H, d, J=2.2 Hz, H-6), 5.33(1H, dd, J=3.0&12.2 Hz, H-2), 4.77(1H, d, J=7.2 Hz, anomeric), 3.75, 3.74(each 3H, -OMe), 2.96(1H, dd, J=12.4&17.0 Hz, H-3_{trans}), 2.68(1H, dd, J=3.0&17.0 Hz, H-3_{cis}), ^{13}C -NMR; Table IV 참조

화합물 I의 산가수분해—화합물 I(20 mg)을 5% H_2SO_4 (50 ml)에 가한 후 수용상에서 3시간 가열한 후 석출하는 침전을 여과 하였다. 침전은 MeOH에서 재결정하여 무색침상결정(화합물 Ia)을 얻었다.

화합물 Ia(7-methylether of hesperitin)⁶⁻⁸⁾—mp 163~4°, Mg/HCl; +(red), MS(m/z, rel. int.); 318($\text{M}^+ + 2$, 2.0), 317($\text{M}^+ + 1$, 12.7), 316(M^+ , 61.2), 315($\text{M}^+ - \text{H}$, 28.2), 301($\text{M}^+ - \text{CH}_3$, 3.3), 298($\text{M}^+ + \text{H}_2\text{O}$, 4.4), 286($\text{M}^+ + 2 \times -\text{CH}_3$, 31.8), 285($\text{M}^+ - \text{OCH}_3$, 20.7), 273(M^+

-CO- CH_3 , 6.2), 193($\text{M}^+ - \text{B ring}$, 33.1), 167(RDA+H, A ring, 92.0), 166(RDA, A ring, 10.5), 150(RDA, B ring, 45.2), 138(166-CO, 18.6), 137 ($\text{C}_8\text{H}_9\text{O}_2$, 100), 135(150- CH_3 , 47.0), 119(150-OMe, 11.5), 107(135-CO, 13.6), ^1H -NMR(DMSO- d_6 , TMS) δ ; 12.09(1H, s, C₅-OH), 9.06(1H, s, OH), 6.94(1H, d, J=2.0 Hz, H-2'), 6.91(1H, d, J=8.5 Hz, H-5'), 6.88(1H, dd, J=2.0&8.5 Hz, H-6'), 6.10(1H, d, J=2.3 Hz, H-8), 6.07(1H, d, J=2.3 Hz, H-6), 5.47(1H, dd, J=3.0&12.3 Hz, H-2), 3.79, 3.78(each 3H, -OMe), 3.23(1H, dd, J=12.4&17.2 Hz, H-3_{trans}), 2.76(1H, dd, J=3.1&17.1 Hz, H-3_{cis}), ^{13}C -NMR; Table IV 참조. 수층은 BaCO_3 를 가해 중화후 여과하고 농축해서 precoated cellulose plate를 사용해서 TLC를 실시하여 glucose를 확인하였다.

화합물 II(4'-methyl naringenin, isosakuranin)⁹⁾의 성상—mp 174~8°, 백색 침상결정, $\text{IR}_{\text{max}}^{\text{KBr}} \text{cm}^{-1}$; 3380(OH), 2920(CH), 1642(α, β -unsat. C=O), 1577, 1517(aromatic), 1451(CH_2), 1343(CH_3), 1071(C-O), ^1H -NMR(DMSO- d_6 , TMS) δ ; 12.01(1H, s, C₅-OH), 7.45(2H, d, J=8.5 Hz, H-2'&6'), 6.98(2H, d, J=8.5 Hz, H-3'&5'), 6.17(1H, d, J=2.0 Hz, H-8), 6.15(1H, d, J=2.0 Hz, H-6), 5.57(1H, d, J=2.7&12.0 Hz, H-2), 4.98(1H, d, J=7.2 Hz, anomeric), 3.78(3H, s, -OMe), 3.15(1H, dd, J=12.0&17.0 Hz, H-3_{trans}), 2.80(1H, dd, J=2.7&17.0 Hz, H-3_{cis}), ^{13}C -NMR; Table IV 참조

동물실험

실험동물—체중 약 150g 전후의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 실험전 1주일동안 22~24°C의 실온(습도 약 60%)에서 사육하여 실험에 사용하였으며 guinea pig는 Hartley계 체중 약 300~350g의 숫컷을 사용하였다.

소염활성실험—Winter법¹⁰⁾에 따라 미리 체중과 paw volume을 측정하고 흰쥐 5마리를 1군으로하여 시료 및 hydrocortisone을 1% CMC에 녹여 경구 투여하고 난 1시간후에 1% carrageenin 생리식염수액 0.1 ml를 뒷발바닥에 피하주사하여 부종을 일으킨후 2시간마다 4시간동안 paw edema volume을 측정하여 그 증가율을 나타내었다(*in vivo* 실험). 한편, 부종이 나타난 국소부위에 외용제로서의 사용가능성을 알아보기 위하여 1% carrageenin 생리 식염수액 0.1 ml를 흰쥐의 뒷발바닥에 피하주사하여 부종을 일으키고 산복사 나무줄기의 메탄올 엑스(5 mg/site)와 indo-

Table I—The effect of *Prunus davidiana* in rat's carrageenin edema test

Treatment ¹⁾	Dose (mg/kg, po)	No. of rats	Increase % (Mean ± S.E.)	
			2 hr.	4 hr.
Control	—	5	28.9± 4.49	72.6± 8.82
MeOH ext.	100	5	30.7± 5.69	108.3± 7.01
CHCl ₃ fraction	10	5	29.1± 3.46	94.6± 14.91
EtOAc fraction	45	5	35.5± 1.58	80.1± 1.99
BuOH fraction	25	5	36.7± 3.80	115.4± 7.71
H ₂ O fraction	22	5	45.3± 5.42	122.7± 7.95
Hydrocortisone	100	5	25.1± 3.48	34.9± 5.50**

**p<0.01

¹⁾The methanolic extract was orally administered 1 hour before 1% carrageenin injection(0.1 ml rat, s.c.)

methacin(0.5 mg/site)을 99.5% EtOH에 녹이거나 현탁하여 carrageenin 주사 1시간전, 주사후 0, 1, 2 시간마다 뒷발바닥에 문지르고 매시간마다 paw edema volume을 측정하였다. 대조군에는 99.5% EtOH만을 투여 하였다.

Guinea pig적출 회장에 대한 작용—24시간 절식 시킨 guinea pig회장을 적출하여 상법에 따라서 실시하였다. 영양액은 Tyrode 용액을 사용하였고, 수욕의 온도는 32°C로 하였으며 영양액의 주입가스는 95% O₂와 5% CO₂ 혼합 기체를 사용하였다. Tyrode 용액내에 histamine의 농도가 10⁻⁷g/ml로 되게하여 수축시켰으며 그 억제정도를 측정하였다. 메탄올 엑스는 histamine을 넣기 3분전에 투여하고 diphenhydramine의 50%억제농도를 지표로하여 비교하였다.

혈소판 응집억제작용—CHCl₃로 미취시킨 흰쥐의 심장에서부터 heparin 처리한 주사기로 채혈하고 300×g로 10분간 상온에서 원심분리하고 그 상등액을 platelet rich plasma(PRP)로 하였다. PRP에 ACD(구연산 65 mM, 구연산나트륨 85 mM, glucose 2%)를 1/5 volume가해 3,200×g로 10분간 22°C에서 원심분리하여 백색침전을 얻고 여기서 2.5 mg/ml의 bovine serum albumin을 함유한 Tris-Tyrode 용액을 가하여 세포수 5×10⁸cells/ml 현탁액을 만들었다. 여기에 메탄올 엑스와 positive control로서 aspirin을 각각 첨가하여 혈소판 응집도를 비교하였다.

실험결과 및 고찰

동물실험—연자들은 한국 민간약의 정확한 생리활성과 그 성분을 구명할 목적으로 수십종의 민간약을

Table II—The effect of *P. davidiana* on histamine induced contraction in guinea pig ileum

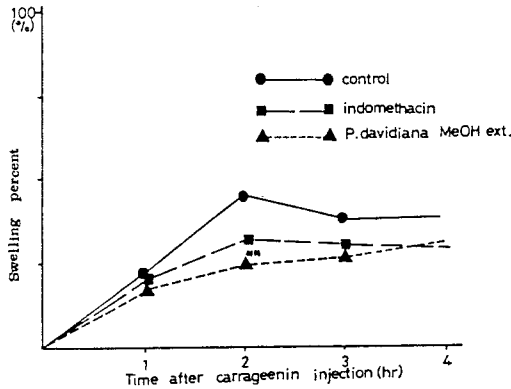
Treatment	Conc. (g/ml)	Inhibition(%)
MeOH extract	1.0 × 10 ⁻⁵	2%
Diphenhydramine	7.3 × 10 ⁻⁸	50%

재료를하여 당뇨병 및 고지질혈증에 미치는 영향을 살펴보던 중 산복사나무줄기의 메탄올 엑스가 탁월한 효과를 나타냄을 알고 그 작용 메카니즘을 구명하고 활성성분을 분리한 바있다. 그러나 실제로 산복사의 줄기는 민간에서 신경통, 류마치스 치료제로 사용되고 있으므로 그 정확한 생리활성을 살펴보고자 새롭게 carrageenin으로 부종을 유도한 흰쥐를 이용하여 항부종효과를 살펴보고자 하였다.

Table I에서 보는바와같이 산복사 메탄올 엑스 및 그 분획물들은 경구투여에 의하여 투여 2시간과 4시간대에 있어서 통계적으로 유의성있는 부종억제효과를 관찰할 수 없었다. 대조군으로서 hydrocortisone을 투여한 군에 있어서는 투여 4시간대에 유의성있는 감소를 나타내었다. Guinea-pig회장 적출장기의 histamine 수축성에 대한 메탄올 엑스의 억제효과는 diphenhydramine의 50% 억제농도인 7.3×10⁻⁸g/ml보다도 높은 1.0×10⁻⁵g/ml 농도에서도 관찰되지 않았으며(Table II), 또한 혈소판 응집 억제효과에 있어서도 positive control인 aspirin의 50% 억제농도인 1.0×10⁻⁷g/ml보다도 높은 1.0×10⁻⁵g/ml농도에서도 역시 관찰되지 않았다(Table III). 그러나, 흰쥐에 있어서 carrageenin으로 부종을 일으킨 부위에 메탄올 엑스(5 mg/site)를 carrageenin 주사 1시간전, 주사후 0, 1, 2시간마다 문지르고 난 후의 부종억제효과를

Table III—The effect of *P. davidiana* on platelet aggregation inhibition

Treatment	Conc. (g/ml)	Inhibition(%)
MeOH extract	1.0×10^{-5}	—
Aspirin	1.0×10^{-7}	50%

**Fig. 1**—Inhibitory effect of *P. davidiana* on carrageenin paw edema in rats^{a)}. ^{a)}n=4 or 5, **p<0.01.

관찰하면(Fig. 1) carrageenin으로 부종을 일으킨후 2시간대에 있어서는 대조군의 indomethacin보다도 훨씬 좋은 부종억제효과를 나타내었다(p<0.01).

일반적으로 carrageenin 유발염증에서의 염증매개물이 1시간이내에는 histamine과 serotonin, 2.5시간에는 kinins, 그리고 2.5시간이후에는 prostaglandin이 방출된다고 알려져 있으므로¹¹⁾, 산복사 나무줄기의 메탄올 엑스를 염증부위에 수회 문질렀을때 항염증 효과가 나타나는 것은 염증매개물의 길항물들이 쉽게 피부를 통하여 국소부위로 스며 들었으리라고 여겨진다. 이것은 메탄올 엑스중에 많은양으로 함유되어 있는 flavonoid화합물²⁾들의 모세혈관 강화효과와 더불어 상승효과로서 피부속으로 쉽게 스며들었으리라 생각된다. 또한 *in vitro*의 guinea-pig 회장의 histamine수축억제효과와 혈소판 응집억제에서는 효과가 나타나지 않았으므로 아마도 메탄올 엑스는 anti-bradykinin 성 효과로 외용하였을때 항염증효과를 일으키는 것으로 사료되며 민간에서 신경통, 류마치스치 료제로서 경구투여로 사용되는 산복사나무줄기는 외용제로서 이용되어진다면 더욱 좋은 효과를 나타내리라고 생각된다.

화합성분—산복사나무줄기의 메탄올 엑스의 EtOAc 가용부를 silica gel 및 Sephadex LH-20 column ch-

Table IV—¹³C-NMR spectral data of compounds I, Ia and II in DMSO-d₆

Compound	Ia	I	II
Carbon No.			
2	78.4	78.2	78.3
3	42.1	44.6	42.0
4	196.6	189.8	196.8
5	163.2	164.1	162.8
6	94.6	97.9	96.5
7	167.4	165.6	165.2
8	93.8	96.0	95.4
9	162.7	160.0	162.5
10	102.6	106.4	103.2
1'	131.0	131.1	128.4
2'	114.0	113.9	128.2
3'	146.5	146.4	113.8
4'	147.9	147.8	159.4
5'	112.0	112.0	113.8
6'	117.6	117.5	128.2
-OMe	55.8	55.9	55.1
	55.6	55.9	
1''		103.1	99.6
2''		73.4	73.0
3''		75.8	76.3
4''		69.9	69.5
5''		77.6	77.0
6''		60.9	60.5

romatography를 행하여 flavanone 배당체인 화합물 I과 화합물 II를 분리하였다. 화합물 I은 산가수분해에 의하여 genin으로서 mp 163~4°인 화합물 Ia와 당으로서 D-glucose를 얻을 수 있었다. 화합물 Ia는 그 ¹H-NMR spectrum에서 2개의 OCH₃기와 δ6.10과 δ6.07에서 J치 2.3 Hz로 meta coupling하는 H-8, H-6 proton, δ6.94, δ6.91, δ6.88에서 H-2', H-5', H-6 proton들의 signal들이 나타났으며, MS spectrum에 의해서 그 분자량이 316이었으며 A환에서 retro-Diels Alder(RDA) 분열이 일어난 peak가 m/z 166, B환에서 RDA 분열이 일어난 peak가 m/z 150에 나타나는 것으로 A환과 B환에 OCH₃기와 OH기를 다함께 가지는 flavanone 화합물로 추정하였으며 A환과 B환에 각각 나타난 OCH₃기는 ¹³C-NMR spectrum(Table IV참조)에 의하여 C-7과 C-4'에 위치함을 알 수 있었다. 따라서 화합물 I의 genin인 화합물 Ia는 hesperetin의 7-methylether⁶⁻⁸⁾로 동정하였다. 화합물 Ia에

결합한 D-glucose의 정확한 위치를 결정하기 위하여 화합물 I의 메탄올 용액에서의 UV spectrum을 살펴 보면 $AlCl_3$, $AlCl_3+HCl$, $NaOAc$, $NaOAc+H_3BO_3$ 와 같은 shift reagent 첨가에 의하여 전혀 변화를 나타내지 않았으므로 D-glucose는 화합물 Ia의 C-5 위치에 결합하고 있음을 알 수 있다. 이러한 사실은 화합물 I의 ^{13}C -NMR spectrum을 화합물 Ia와 직접 비교하여 보아도 더욱 잘 알 수 있다. 즉, 화합물 I의 C-4의 chemical shift치는 화합물 Ia에 비해서 6.8 ppm 정도 저자장 shift하고 있어 이는 hesperetin 5-O-glucoside의 경우와 마찬가지로 C-5 위치에 당이 결합되어 있음을 나타낸다.²⁾ 당의 결합양식은 1H -NMR spectrum에서 anomeric proton의 J치가 7.1 Hz로 나타났으므로 β -결합하고 있다. 이상의 결과를 종합하여 화합물 I은 5-glucosyl-3'-hydroxyl-7, 4'-dimethoxy flavanone인 persiconin⁶⁾으로 동정하였다. 화합물 II는 mp 174~8°의 백색침상 결정으로서 이미 이 식물에서 보고된 prunin(naringenin 7-O-glucoside)²⁾과 화합물 I의 1H -NMR 및 ^{13}C -NMR spectrum과의 비교(실험 방법과 Table IV 참조)에 의하여 4'-methyl naringenin인 isosakuranin⁹⁾으로 동정하였다.

결 론

민간에서 신경통, 류마치스 치료제로서 사용되고 있는 산복사나무줄기의 메탄올 엑스가 소염제로서의 개발가능성을 알아보기 위하여 *in vivo* 및 *in vitro* 실험으로 항염증효과를 살펴보았다. 메탄올 엑스를 경구투여하거나 guinea-pig 적출회장의 histamine 수출억제효과와 혈소판응집억제와 같은 *in vitro* 실험에서는 효과가 나타나지 않았으나 carrageenin 유도 부종 흰쥐에 문질러 투여하였을 때는 유의성있는 효과가 관찰되었다. 따라서 산복사나무줄기의 메탄올 엑스는 외용제로서 염증부위에 사용할 수 있다는 가능성을 시사하였으며, 또한 계속적인 성분연구의 일환으로서 메탄올 엑스의 EtOAc 가용성 분획으로부터 flavanone 배당체를 분리하고 그 구조를 각각 persiconin과 isosakuranin으로 동정하였다.

문 헌

- 1) Choi, J.S., Chung, H.Y. and Young, H.S.: A preliminary study on hypocholesterolemic and hypoglycemic activities of some medicinal plants. *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**(2), 153-157 (1990).
- 2) Choi, J.S., Woo, W.S., Young, H.S. and Park, J.H.: Phytochemical study on *Prunus davidiana*. *Arch. Pharm. Res.*, **13**(4), 374-378 (1990).
- 3) Choi, J.S., Suh, S.S., Young, H.S. and Park, H.J.: Hypolipemic and hypoglycemic activities of *Prunus davidiana* in high fat-fed rats. *Arch. Pharm. Res.*, **14**(1), 44-47 (1991).
- 4) Choi, J.S., Yokozawa, T. and Oura, H.: Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. *J. Nat. Prod.*, **54**(1), 218-224 (1991).
- 5) Choi, J.S., Yokozawa, T. and Oura, H.: Improvement of hyperglycemia and hyperlipemia in streptozotocin-diabetic rats by a methanolic extract of *Prunus davidiana* stems and its main component, prunin. *Planta Medica*, **57**, 208-211 (1991).
- 6) Rahman, W. and Bhatnagar, S.P.: Flavonoids from *Prunus persica* Batsch(Peach bark). *Aust. J. Chem.*, **21**, 539-541(1968).
- 7) Christiansen, K. and Boll, P.M.: A new flavanone from Peach bark. *Tet. Lett.*, No. 12, 1293-1297 (1966).
- 8) Crins, W.J. and Bohm, B.A.: Flavonoids of *Adenothamnus validus*. *Phyto.*, **27**(8), 2647-2649 (1988).
- 9) Hasegawa, M.: On the flavonoids contained in *Prunus woods*. *J. Jpn. For. Soc.*, **40**(3), 111-121 (1958).
- 10) Winter, C.A., Risley, E.A. and Nuss, G.W.: Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drug. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (N.Y.), **111**, 544-547 (1962).
- 11) 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).