

식물성 항염증제의 개발 : 인동추출물에 대한 항염증 및 진통작용의 비교

이송진 · 손건호* · 장현욱** · 강삼식*** · 박병욱****

곽의중**** · 한창균**** · 김현표

강원대학교 약학대학 · *안동대학교 식품영양학과 · **영남대학교 약학대학 ·

서울대학교 천연물과학연구소 · *신경인디스트리 연구소

Development of Plant Anti-inflammatory Agents: Comparison of Anti-inflammatory and Analgesic Activities of Extracts from *Lonicera japonica*

Song Jin Lee, Kun Ho Son*, Hyeun Wook Chang**, Sam Sik Kang***, Pyeong-uk Park****,
Wie-jong Kawk****, Chang-kyun Han**** and Hyun Pyo Kim

College of Pharmacy, Kangweon Nat'l Univ., Chuncheon 200-701, *Dept. Food Nutrition, Andong
Nat'l Univ., Andong 760-749, **College of Pharmacy, Yeungnam Univ., Kyongsan 712-749,

***Natural Products Research Institute, Seoul Nat'l Univ., Seoul 110-460 and

****R & D Center, Sunkyong Industries, Suwon 440-745, Korea

Abstract—For developing plant anti-inflammatory agents, extracts from *Lonicera japonica* were obtained and evaluated for their anti-inflammatory and analgesic activities using acute/chronic inflammatory models and writhing tests. It was found that the extracts with a modified extraction method showed higher anti-inflammatory and analgesic activities than those of the extracts based on the ancient literatures.

Keywords—*Lonicera japonica* · anti-inflammatory activity · analgesic effect · acute inflammation · chronic inflammation · mice ear edema test · adjuvant-induced arthritis test · acetic acid-induced writhing test

인동과 식물인 인동덩굴(*Lonicera japonica*)은 산야에서 자라고 있는 반상록 덩굴성 관목으로서 꽃봉우리는 금은화(金銀花), 줄기와 가지는 인동등(忍冬藤)이라하여 이노, 진위, 청열, 해열, 해소 및 소염제로 사용되고 있는 생약이다.^{1,2} 인동은 민간에서 오래전부터 항염증제로 알려져 왔으며, 특히 상기도 감염 및 신경통 치료에 많이 사용되어 왔다. 그러나, 현재까지 인동 추출물의 항염증작용 및 진통작용에 대한 보고는 거의 없었다. 저자 등은 인동으로부터 여러 종류의 성분을 분리하였고, 활성성분을 연구하여

왔다.³⁻⁵ 이 본 논문은 인동으로부터 식물성 항염증제의 개발을 위하여 인동추출물을 얻었고, 이 분획에 대한 항염증작용을 동의보감 원처방에 따라 얻은 추출물과 비교 연구한 결과이다.

실험 방법

인동은 경북 안동 부근에서 채집하여 음건한 후 사용하였고, 감초는 시중에서 구입하였다. Croton oil, arachidonic acid, heavy mineral oil, prednisolone, aspirin은 Sigma에서 구입하였다.

*Mycobacterium butylicum*은 Difco에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 시중에서 구할 수 있는 가장 순도가 높은 것을 사용하였다. 실험동물로는 웅성의 ICR계 마우스와 Sprague-Dawley계 (SD)랫트를 사용하였고, $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 12hr/12hr (LD) cycle로 최소한 1주일이상 적응시킨 후 실험에 사용하였고, 사료로는 삼양유지 마우스 pellet사료를, 물은 무제한 공급하였다.

인동추출물의 조제—인동을 동의보감 원처방에 따라 인동과 감초(5:1)를 혼합 추출한 후 동결 건조한 분획을 (I)로 하고 분획 (I)을 *n*-BuOH로 추출한 후 감압농축하여 동결건조한 분획을 (II)로 하였으며, 사상의학 등에 있는 처방과 같이 감초를 넣지 않고, 가장 활성이 좋은(data not shown), 인동등의 줄기와 잎의 비율을 65:35로 조절하여 추출후 이 물층을 다시 *n*-BuOH로 추출해서 감압농축하여 동결건조한 분획을 (III)으로 하여 각각의 분획을 조제 하였다. 각 분획의 수율은 분획 (I)이 17.67%, (II)가 3.55%, (III)은 4.16%로 나타났다.

항염증작용의 검정—본 실험에서 사용된 *in vivo* 염증모델은, 급성염증모델로는 croton oil 또는 arachidonic acid를 발염제로 이용한 마우스 귀부종법(mice ear edema test)을 사용하였고, 만성염증 모델로는 adjuvant-induced arthritis법(AIA)를 사용하였다. 간략히 설명하면, 마우스 귀부종저해능은 Tonnelli 등의 방법⁷⁾을 수정한 Kim 등의 방법⁸⁾에 따라, 마우스에 각각의 인동추출물을 경구투여하고, 1시간 후 2.5% croton oil 또는 2% arachidonic acid를 양쪽귀에 바르고, croton oil의 경우는 5시간 후, arachidonic acid의 경우는 1시간 후 각각의 귀두께를 dial thickness gauge(Lux Scientific Instrument)로 측정하였다. 대조군은 인동추출물대신 멸균증류수를 경구투여 하였다.

AIA 저해능의 검정은 Kubo 등의 방법⁹⁾에 따라, heavy mineral oil에 suspension시킨 열처리된 *Mycobacterium butylicum*을 랫트의 오른쪽발에 주사하였고(0.6 mg M.b./rat), 부종을 water-displacement법으로 측정하였다. 이때 인동추출물은 18일간 매일 경구투여 하였다. 대조군은 인동추출물대신 멸균증류수를 경구투여 하

였고, arthritis는 *Mycobacterium*을 투여하지 않은 왼쪽발의 부종을 기준으로 하였다.

진통작용의 검정—본 실험에 사용된 *in vivo* 통증모델은 acetic acid-induced writhing법과 hot plate법을 사용하였다. 간략히 설명하면, acetic acid-induced writhing test는 ICR계 마우스에 인동추출물을 경구투여하고 1시간 후 0.6% 초산을 0.1 ml/10 g body weight의 용량으로 복강 주사하고, 주사 후 10분 후부터 10분간 각각의 마우스가 나타내는 통증반응인 writhing횟수를 관찰하였다.

Hot plate test는 ICR계 마우스에 인동추출물을 경구투여하고 1시간 후 각각의 마우스를 49.2°C 로 예열된 hot plate(UGO BASILE TYPE 7250) 위에 올려 놓고 발바닥을 활거나 도약할 때까지의 시간을 측정하였다.

안전성검정—안전성검정의 일환으로 ICR계 마우스와 SD계 랫드에 대한 급성독성실험을 국립보건안전연구원 예규에 의거하여 수행하였으며, 인동추출물을 증류수에 현탁시켜 최고농도 5 g/kg에서부터 2공비로 다섯 농도를 투여, 관찰하였다.

통계처리—실험결과는 Student t-test로 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

동의보감 원처방에 따라 추출된 분획 (I) 및 이의 BuOH 분획 (II)와 새롭게 개선한 방법으로 추출한 분획 (III)에 대하여 급성염증모델인 마우스귀부종법으로 검정한 결과는 Table I 및 II와 같았다. 발염제로 croton oil을 처리한 경우, Table I에서와 같이 원방 (I)보다는 BuOH분획인 (II)가 활성이 높았고, 분획 (II)보다는 개선된 추출분획 (III)의 활성이 높았다.

발염제로 arachidonic acid를 처리한 실험에서도 역시 같은 결과를 보였다(Table II). 즉 분획 (I)보다는 분획 (II)가 활성이 높았고, 분획 (III)의 활성이 가장 높았다. 이 결과로 인동추출분획이 급성염증에 항염증능이 있으며, 분획 (III)의 항염증력이 가장 높다는 것을 알았다. 급성염증모델로 사용된 마우스 귀부종법은 발염

Table I. Mice croton-oil ear edema inhibition of *Lonicera japonica*

Group	Dose (mg/kg)	Thickness increased(mm)	% Inhibition
Control	—	0.29±0.02	—
Prednisolone	100	0.16±0.05**	43
(I)	50	0.29±0.03	—
	100	0.24±0.02*	17
	200	0.26±0.02	10
(II)	50	0.28±0.02	3
	100	0.22±0.02**	22
	200	0.22±0.02**	25
(III)	50	0.26±0.01	10
	100	0.22±0.02**	23
	200	0.21±0.02**	28

All compounds were orally administered.

*: p<0.01, **: p<0.001, Significantly different from control.

제의 종류에 따라 서로 다른 기전으로 염증이 발현된다. 즉 발염제로 croton oil을 사용하는 경우 croton oil에 포함되어 있는 phorbol ester 등의 작용으로¹⁰⁾ 24시간정도 진행되는 부종이 일어난다. 이때에는 많은 갯수의 호중구가 모여며, 국소적으로 leukotriene B₄ (LTB₄)의 생성이 부종과 깊은 관계가 있다.¹¹⁾ 여기에는 스테로이드 항염증제(steroidal anti-inflammatory drug)의 경우 강력한 항염증력이 발현된다.⁸⁾ 이에 반

Table II. Mice arachidonic acid ear edema inhibition of *Lonicera japonica*

Group	Dose (mg/kg)	Thickness increased(mm)	% Inhibition
Control	—	0.18±0.03	—
Aspirin	100	0.12±0.02**	32
(I)	50	0.18±0.04	—
	100	0.15±0.03	17
	200	0.14±0.03*	22
(II)	50	0.17±0.04	6
	100	0.15±0.03	19
	200	0.13±0.02*	27
(III)	50	0.16±0.03	11
	100	0.14±0.03*	25
	200	0.12±0.01**	37

All compounds were orally administered.

*: p<0.01, **: p<0.001, Significantly different from control.

하여 arachidonic acid를 발염제로 사용하던, 주로 arachidonic acid의 대사산물인 prostaglandin 류(PG)가 생성되어 염증이 나타나며, cyclooxygenase 저해제들인 비스테로이드 항염증제(nonsteroidal anti-inflammatory drug)의 경우 강력한 항염증력이 발현된다.^{11,12)} 인동추출물에 있어서는 이 두가지 처리에서 모두 항염증력이 발현되었기 때문에 폭넓은 항염증능을 보인다는 것을 알 수 있었다.

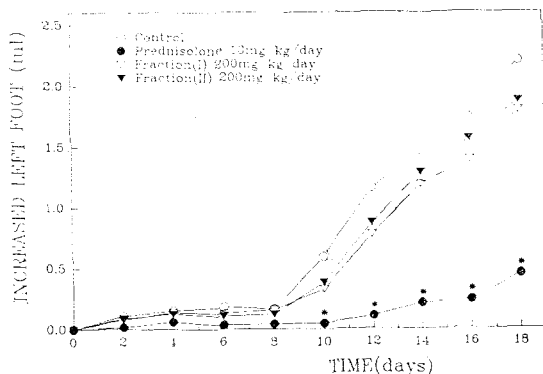


Fig. 1. Anti-arthritic activity of fraction (I) and (II)
*: p<0.05, Significantly different from control

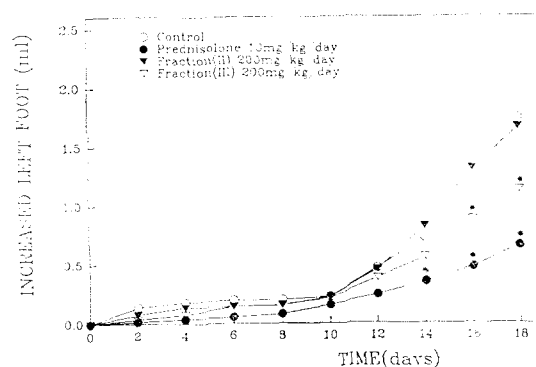


Fig. 2. Anti-arthritic activity of fraction (II) and (III)
*: p<0.05, Significantly different from control

Table III. Acetic acid-induced writhing inhibition of *Lonicera japonica*

Group	Dose (mg/kg)	Writhing counts (Mean±S.E.)	% Inhibition
Control	—	21±3	—
Aspirin	200	13±5	38
	400	5±2**	76
(I)	200	15±2	29
	400	13±4	38
	800	7±2**	67
(II)	200	13±2	38
	400	12±2	43
	800	10±2*	52
(III)	200	11±3*	48
	400	9±2*	57
	800	5±2**	76

All compounds were orally administered.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, Significantly different from control.

만성염증모델인 AIA법에 의한 검정결과는 Fig. 1, 2와 같다. 200 mg/kg/day의 용량에서 분획 (I)과 (II)보다는 분획 (III)에서 높은 활성이 발현되었다. 그러므로, 이상의 결과로써 분획 (I)과 (II)보다는 분획 (III)이 급성과 만성염증 모두에서 높은 활성을 보인다는 것을 알았다.

한편, 통증억제효과력 평가모델인 acetic acid-induced writhing test 결과는 Table III과 같았고, 이 결과 역시 등의보감 원처방(감초가 혼합된 처방) 보다는 사상의학이나 의학입문 등에서와 같이 인동만을 이용한 개선된 추출분획(분획 III)의 활성이 우수하다는 것을 보여주고 있다. Hot plate test법에 의한 중추신경계에 대한 영향 평가에서는 대조군과 유의성있는 편차가 없었으므로(data not shown), 상기의 진통작용이 중추신경계 억제에 의한 진통작용은 아니라고 사료된다.

또한 개선된 분획 (III)과 일반적 사용법인 물추출물과의 급성독성의 비교에서는 ICR계 마우스와 SD계 랫트에 대하여 두군 모두 5 g/kg의 최고 농도에서도 치사개체가 발생하지 않았으며, 유의성있는 체중의 변화도 관찰되지 않았으며

므로 (data not shown), 물층 및 BuOH 분획(분획 III) 모두 무독하다고 판단된다.

이상의 결과로부터 항염증 및 진통활성에 대한 유효성 측면에서 감초가 포함되지 않은 개선된 추출분획(III)이 바람직 할 것으로 사료된다.

현재까지 인동으로부터는 여러 물질들이 단리되어 보고되었으며,¹³⁾ 저자 등이 ochnaflavone 등의 biflavonoid를 포함한 flavonoid들³⁾ 및 식물질인 hederagenin 배당체인 loniceroid A, B 등을 분리 보고하였고,⁴⁾ iridoid 등의 유도체들도 보고하였으며,⁵⁾ 이들 몇종의 물질에 대하여 항염증활성을 밝힌 바 있고,⁶⁾ 현재 계속적으로 이들의 항염증작용을 연구하고 있다.

결론

1. 인동추출물에 대하여 항염증 및 진통작용을 검정 비교하였다. 그 결과 감초를 혼합하지 않고 인동단독으로 추출한 분획의 항염증 및 진통작용이 가장 높았다.

2. 이 분획의 급성독성은 없었다.

<1994년 8월 17일 접수 : 9월 5일 수리>

참고 문헌

1. 李昌福: 大韓植物圖鑑, 郷文社, 서울, p. 709 (1989).
2. 池亨浚, 李尙仁: 大韓藥典外韓藥(生藥)規格集, 한국메디칼인덱스사, 서울, pp. 87, 305 (1988).
3. Son, K.H., Park, J.O., Chung, K.C., Chang, H.W., Kim, H.P., Kim, J.S. and Kang, S.S.: *Arch. Pharm. Res.* 15, 365 (1992).
4. Son, K.H., Jung, K.Y., Chang, H.W., Kim, H.P. and Kang, S.S.: *Phytochem.* 35, 1005 (1994).
5. Son, K.H., Kim, J.S., Kang, S.S., Kim, H.P. and Chang, H.W.: *Kor. J. Pharmacogn.* 25, 24 (1994).
6. 강삼식, 장현옥, 손건호, 김현표: 특허출원(출원번호: 92-11752, 92-11753).
7. Tonnelli, G., Thiabault, L. and Ringler, I.: *Endocrinol.* 77, 625 (1965).
8. Kim, H.K., Namgoong, S.Y. and Kim, H.P.

- Arch. Pharm. Res.* 16, 18 (1993).
9. Kubo, M., Matsuda, H., Tanaka, M., Kimura, Y., Okuda, H., Higashino, M., Tani, T., Namba, K. and Arichi, S.: *Chem. Pharm. Bull.* 32, 2724 (1984).
 10. Lubach, D. and Kietzmann, M.: *Topical Corticoids*, Karger, p.26 (1992).
 11. Rao, T.S., Currie, J.L., Shaffer, A.F. and Isakson, P.C.: *Inflammation* 17, 723 (1993).
 12. Young, J.M., Spires, D.A., Bedord, C.J., Wagner, B., Ballaron, S.J. and De Young, L.M.: *J. Invest. Dermatol.* 82, 367 (1984).
 13. Tang, W. and Eisenbrand, G.: *Chinese Drugs of Plant Origin*, Springer-Verlag, Berlin, p.621 (1992).