

斑猫와 Cantharidin의 抗炎症效果에 對한 研究

趙忠植 · 金哲中*

I. 緒 論

斑猫는 堯靑科에 屬한 昆蟲인 南方大斑猫 또는 黃黑小斑猫의 乾燥體¹⁻²⁾로, 여름과 가을에 採取하여 燙死시킨 다음 晒乾한 것¹⁾이며, 《神農本草經》³⁾에 처음으로 記載되었다.

斑猫의 效能에 對하여 神農本草經³⁾에서는 “寒熱鬼注 蟲毒鼠癘惡創疽蝕邪肌破石癰”한다고 하였으며, 最近에 郭⁴⁻¹⁰⁾ 등은 發泡作用과 消炎作用 및 抗腫瘤作用이 있어 疥癬, 神經性皮膚炎, 癩癧, 口眼歪斜, 關節炎, 癌 등에 活用된다고 하였다.

斑猫의 性味는 辛寒有毒^{2,11-18)}하며, 毒性은 主로 cantharidin이라는 強力한 防禦物質에 起因한다¹⁹⁻²⁰⁾. 斑猫는 內服과 外用으로 모두 使用되었고, 毒性으로 因해 內服時에는 적게는 大部分 0.03~0.06g, 多用時에는 1.5~2g까지 使用하였다²¹⁾.

韓醫學에서의 歷節風^{13,15,22-27)}, 鶴膝風²⁵⁾, 白虎歷節風^{13,15,22,23-24,28-30)}, 痛風^{13,23-24,26,28,31-32)}, 痺症^{13,22,24,28,30-31,33-38)} 등은 西醫學의 滑液關節을 侵犯하는 炎症性多發性關節炎으로 非化膿性이고 全般的結締組織의 異常으로 定義되는 류마티스性關節炎³⁹⁾과 類似하다고 할 수 있다⁴⁰⁾.

最近 斑猫에 對한 論文으로는 朴²¹⁾의 斑猫에 關한 文獻的 考察, 崔⁴¹⁾의 斑猫天灸가 류마티스樣 關節炎患者의 鎮痛效果에 對한 臨床報告, 李⁴²⁾의 斑猫藥鍼이 白鼠의 adjuvant 關節炎에 미치는 影響이 있었으며, 玄⁴³⁾은 斑猫를 adjuvant 注射와 同時에 經口投與하여 關節炎의 誘發有無를 測定하였는데, 이는 斑猫의 關節炎 治療效果보다는 豫防 效果를 살펴본 것이라 할 수 있다. 그러나 지금까지 斑猫의 어떤 成分에 依해서 抗炎症 效果가 있는 지에 對해서는 報告된 바가 없었다. 이에 著者는 炎症性 關節疾患에 斑猫와 斑猫의 主成分인 cantharidin의 抗炎症 效能에 對한 有意性을 比較하기 爲하여 adjuvant 關節炎이 誘發된 實驗動物에 藥物을 經口投與한 後 有意性 있는 結果를 얻었기에 이에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 實驗動物

本 實驗에 使用된 動物은 體重 190-210g의 Spraque-Dawley 雌性 rat를 固形飼料 (제일제당)와 물을 充分히 供給하면서 實驗室環境에 1週日間 適應시킨 後 使用하였다.

2) 藥物

實驗에 使用된 斑猫는 大田大學校 附屬 韓方病院에서 購入한 것을 使用하였다.

Cantharidin, testosterone, chlorzoxazone, ethoxyresorufin, pentoxyres-orufin, resorufin, NAP, glucose-6-phosphate, NADPH, glucose-6-phosphate dehydrogenase 등은 Sigma Chemical Co.(USA)에서 購入하여 使用하였다.

2. 實驗方法

1) 修治가 斑猫의 cantharidin 成分에 미치는 影響斑猫를 炒하거나, 頭, 足, 翅를 除去하고 糯米와 炒^{1,4,10,12,14,18,21)}하여 斑猫의 有效成分으로 알려진 cantharidin의 含量 變化를 檢討하였다.

斑猫 細末 1g을 正確히 取해 50ml centrifuge tube에 넣고 石油ether 10ml를 加하고 振盪하여 脂肪成分을 除去하고 遠心分離한 다음 石油ether層을 除去한다. 斑猫에 dichloromethane 20ml를 加하고 sonicator에서 2時間 동안 抽出하고 內部標準物質로 diazinon을 加하고 上騰液 1 μ l를 取하여 cantharidin의 含量을 gas chromatography(GC)法으로 分析하였다.

Cantharidin의 GC分析條件은 다음과 같다.

Column : 20% DC 200 on Chromosorb-P 80/100 (2m x 4 mm i.d.)

Column temperature : 190°C

Injector temperature : 250°C

Detector : FID

* 大田大學校 韓醫科大學 內科學教室

Carrier gas : N₂

2) 藥劑의 調製

頭, 足, 翅를 除去하고 糯米와 炒한 斑猫의 가루를 tween 80에 懸탁하여 20mg/5ml/kg, 50mg/5ml/kg으로 調製하였고, cantharidin도 tween 80에 懸탁하여 0.2mg/5ml/kg, 0.5mg/5ml/kg으로 調製하였으며, 對照藥物로는 非스테로이드 消炎鎮痛劑인 ketoprofen을 tween 80에 懸탁하여 10mg/5ml/kg으로 調製하여 使用하였다.

3) Adjuvant 關節炎에 對한 效果

M. Tuberculosis H373a를 流動paraffin에 懸탁시켜 調製한 5mg/ml adjuvant를 S.D. 雌性 rat의 右側足趾에 0.1ml 皮下注射하여 關節炎을 發症시켰다⁴⁴⁾. 14日 後에 浮腫增加率을 測定하여 關節炎이 確實히 일어난 것만을 選擇하여 1群에 7마리씩 對照群과 實驗群으로 區分하여 藥劑를 投與하였다.

藥劑의 治療效果를 檢討하고자 adjuvant 注射 後 15日 從부터 9日間 藥劑를 投與하여 浮腫增加率과 浮腫抑制率을 計算하였다.

$$\text{浮腫增加率(\%)} = \frac{\text{adjuvant注射後의 足容積} - \text{adjuvant注射前의 足容積}}{\text{adjuvant注射前의 足容積}} \times 100$$

$$\text{浮腫抑制率(\%)} = \frac{\text{對照群의 浮腫增加率} - \text{藥物投與群의 浮腫增加率}}{\text{對照群의 浮腫增加率}} \times 100$$

4) 血清中 酵素變化的 測定

關節炎 誘發 rat에 9日間 藥物投與한 다음 動物을 頸椎脫臼한 後 腹帶靜脈에서 血液을 採取하여 3,000rpm에서 血清을 分離하였다. 血清中의 aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), blood urea nitrogen(BUN), creatinine, glucose, cholinesterase, alkaline ph-osphatase(ALP), protein, albumin의 變化를 測定하였다.

5) 肝 藥物代謝酵素에 對한 影響

① S-9 fraction의 分離

關節炎 誘發 rat에 9日間 藥物投與한 다음 動物을 頸椎脫臼하여 肝을 摘出하고, 4倍量의 冷 0.1M 칼륨磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)을 加해 均質化시켰다. 均質液을 4℃에서 9,000xg로 遠心分離하고 上騰液을 取한 S-9 分割은 -70

℃에 保管하였으며 蛋白質은 bovine serum albumin(BSA)을 標準品으로 삼아 Bradford의 方法에 準하여 定量하였다.

② Ethoxyresorufin O-deethylase(EROD) 活性測定⁴⁵⁾

Rat의 肝 S-9 分割과 0.1M 칼륨磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)에 2mg/ml BSA를 含有하도록 添加한 後, 5mM glucose-6-phosphate, 5uM NADPH, 1.0U glucose-6-phosphate dehydrogenase, 2.5uM 7-ethoxyresorufin를 加하여 總反應液의 부피를 1.0ml로 調節하고, 反應液에 2.5uM 7-ethoxy-resorufin를 加하면서 37℃에서 15分間 反應시킨다. Resorufin의 生成은 Kontron SFM25 fluorescence spectrophotometer를 利用하여 Excitation 550nm와 Emission 585nm에서 測定하였다. Blank는 enzyme source만을 除外하고 같은 條件으로 하고, 生成된 resorufin의 量은 resorufin의 검량선으로부터 求하며 結果는 pmol resorufin/min/mg protein으로 나타낸다.

③ Pentoxyresorufin O-dealkylase (PROD) 活性測定

PROD 活性測定은 EROD 活性測定 方法과 同一하게 實施하며 基質로는 2.5uM 7-Pentoxyresorufin을 使用한다.

④ Chlorzoxazone hydroxylase 活性測定⁴⁶⁾

Rat의 肝 S-9 分割과 50mM 칼륨磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)에 100uM의 chlorzoxazone을 添加하여 37℃에서 3分間 豫備反應을 시켰다. 이어서 5mM glucose-6-phosphate, 1.0mM NADP, 그리고 1.0U의 glucose-6-phosphate dehydrogenase를 加하여 總反應液의 부피를 1.0ml로 調節하였다. 反應液을 37℃에서 20分間 反應시킨 後 43% 磷酸 100ul를 加하여 反應을 終了시켰으며, dichloromethane 2ml를 加하여 振盪한 後 3,000xg에서 10分間 遠心分離하여 dichloromethane層을 分離하였다. 分離한 dichloromethane層을 窒素가스로 蒸發시키고 남은 殘留物에 200ul의 methanol을 加해 溶解시켰다. 이 溶液 5ul를 Capcell PAK UG 120 (5um, 2.0×250mm)에 注入하고 32% acetonitrile 含有 磷酸鹽緩衝液(pH 2.5)으로 溶出시켰다. 이때 流速은 0.2ml/min이었으며 287nm에서 分析하였다. 生成된 代謝物인 hydroxychlorzoxazone은 피이크面積을 利用한 外部標準法으로 定量하였다.

⑤ Testosterone 7α-hydroxylase 活性測定⁴⁷⁾

Rat의 肝 S-9 分割과 50mM 칼륨磷酸鹽緩衝液(pH 7.4)에 100uM의 testosterone을 添加하고 5mM glucose-6-phosphate, 1.0mM NADP 및 1.0U의

glucose-6-phosphate dehydrogenase를 加하여 testosterone 代謝의 反應 混合物의 부피를 1.0ml로 調節하였다. 反應液을 37°C에서 20分間 反應시키고 dichloromethane 2ml를 加하여 反應을 終了시켰으며, internal standard로 corticosterone을 加하여 振盪한 후 3,000xg에서 10分間 遠心分離하여 dichloromethane層을 分離하였다. 分離한 dichloromethane層을 窒素가스로 蒸發시키고 남은 殘留物에 200ul의 methanol을 加해 溶解시켰다. 이 溶液 5ul를 Capcell PAK UG 120(5um, 2.0×250mm)에 注入하고 32% acetonitrile의 溶媒로 溶出시키며, 流速은 0.2ml/min이며 254nm에서 分析하였다.

6) Hyaluronidase 活性 抑制에 對한 影響⁴⁸⁾

Hyaluronidase의 活性은 이 酵素의 作用으로 因해 基質인 potassium hyaluronate에서 切斷된 N-acetylglucosamine을 glucozaxoline 誘導體로 變形시킨 後 p-dimethylamino-benzaldehyde(DM BA)로 發色시켜 波長 585nm에서 吸光度를 測定한다. 卽, hyaluronidase를 calcium이 存在하는 醋酸緩衝液上에서 37°C로 20分間 미리 培養하여 活性化시킨 後 cantharidin과 基質로서 potassium hyaluronate를 加하여 若 40分間 繼續 培養하였다. 그 後 水酸化나트륨과 硼酸칼륨을 加하여 反應을 終結시키고 100°C로 加溫後 DMBA로 發色시켜 吸光度를 測定하였다.

III. 實驗 成績

1. 斑猫의 修治에 依한 cantharidin의 含量에 對한 影響

斑猫의 修治方法에 依한 斑猫의 主要成分인 cantharidin 含量의 變化를 測定하였다.

斑猫中 cantharidin 含量을 算出하고자 細末한 斑猫 1g을 dichloromethane으로 抽出하여 GC法으로 cantharidin을 分離定量하였고(Fig. 1), 그 含量은 Table 1에 나타내었다.

使用한 斑猫中 cantharidin 含量은 $1.24 \pm 0.05\%$ 이고, 炒한 斑猫 또는 頭, 足, 翅를 除去後 糯米와 炒한 斑猫에서 cantharidin 含量은 各各 $1.10 \pm 0.12\%$, $1.01 \pm 0.06\%$ 였다.

2. Adjuvant arthritis에 關한 效果

Adjuvant 關節炎은 慢性 류마티스 關節炎과 類似한 점이 많고 發生機轉에 遲發型 알레르기가 關與하고 있

다⁴⁹⁾. Adjuvant 關節炎에 對한 各種 抗炎症劑의 效果는 慢性 류마티스 關節炎에 對한 臨床效果와 相關성이 크므로⁵⁰⁻⁵²⁾, 抗류마티스劑나 免疫抑制劑의 研究 및 스크리닝에 널리 利用되고 있다. Adjuvant 注射 直後 14日間 藥物을 投與하는 것은 抗炎症藥의 adjuvant 關節炎 發症抑制效果를 評價하는 것이고, adjuvant 關節炎에 對한 治療效果試驗을 하기 爲해서 大部分 藥物投與는 adjuvant 注射 後 15-18日 頃부터 始作한다⁵³⁾.

本 實驗에서는 斑猫 및 그 有效成分인 cantharidin의 adjuvant 關節炎 治療效果를 檢討하고자 adjuvant 注射 後 15日 째부터 藥物을 投與하였다.

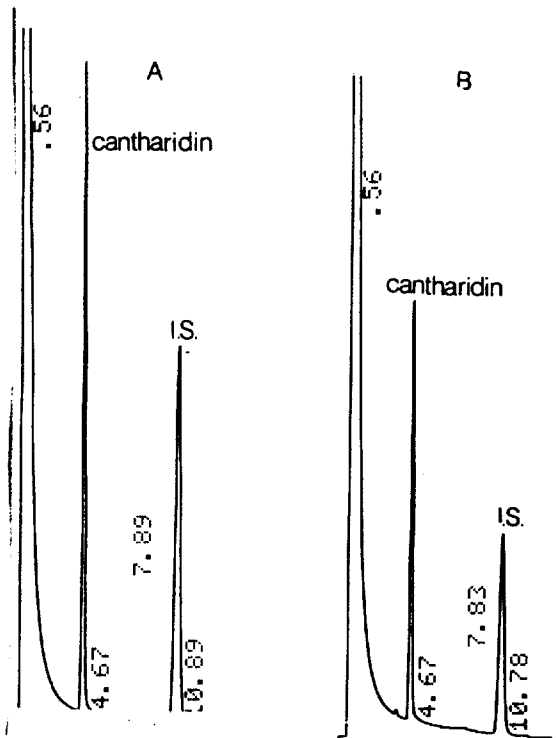


Fig. 1. Gas Chromatograms of (A) Cantharidin Standard Solution (500mg/ml) and (B) a Roasted-beetle Extract. Internal Standard was Diazinon(500mg/ml).

斑猫는 adjuvant 注射後 15日 째부터 10日間 20mg/kg 및 50mg/kg 投與에 依해 adjuvant 關節炎에 對한 有意性 있는 抑制作用을 나타내었다 (Table II, Fig. 2). 또 한 斑猫에서 抗炎症效果를 나타내는 成分을 料明하고자 斑猫의 有效成分인 cantharidin을 0.2mg/kg 및 0.5mg/kg 投與했을 때 斑猫投與群과 類似한 抑制作用을 나타내었다 (Table II, Fig. 2).

非스테로이드性 消炎鎮痛劑인 ketoprofen도 關節炎 發症期에 10mg/kg 投與時 有意性 있는 抑制效果를 나타내었다(Table II, Fig. 2).

3. 血清中 酵素變化의 測定

斑猫 및 cantharidin 投與에 依한 血清中 蛋白質, albumin, ALP, glucose, BUN, creatinine, ALT, AST, cholinesterase의 濃度變化를 測定하였다(Fig. 3, 4, 5).

血清中 蛋白質 濃度는 斑猫 50 mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg 投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 減少하였으며, 血清中 albumin 濃度는 藥物投與에 依해 變化가 없었다(Fig. 3).

血清中 ALP의 濃度는 斑猫 50mg/kg 投與群에 依해서 對照群 및 正常群에 比해 有意性 있게 減少하였다(Fig. 3).

血清中 BUN 濃度는 對照群에서 正常群에 比해 有意性 있게 增加하였고 ketoprofen 10mg/kg, 斑猫 50mg/kg

50mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg 投與群에서 對照群 및 正常群에 比해 有意性 있게 減少하였다(Fig. 4).

血清中 cholinesterase는 ketoprofen, 斑猫 및 cantharidin 投與群에서 有意性 있게 減少하였다(Fig. 5).

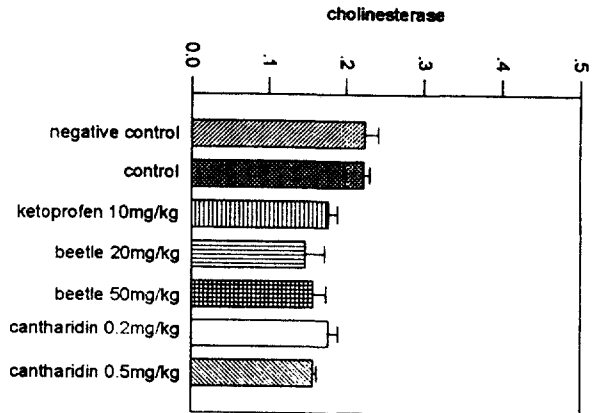


Fig. 5. Effects of Beetle, Cantharidin and Ketoprofen on Cholinesterase in Serum of Rats.

* : p < 0.05 (compared with control group)

Table I. Effects of the Process of Myalabris on the Contents of Cantharidin

Sample	Content of cantharidin(%)
Beetle, raw materials	1.24 ± 0.05
Beetle, roasted	1.10 ± 0.12
Beetle, roasted and removed head, legs and wings	1.01 ± 0.06

4. 肝 藥物代謝酵素에 對한 影響

Adjuvant 關節炎이 誘發된 對照群은 正常群에 比해 肝의 藥物代謝酵素中 PROD(cytochrome P450 2B)와 EROD(cytochrome P450 1A)가 有意性 있게 抑制되었다(Fig. 6).

Table II. Effects of Mylabris and Cantharidin on the Adjuvant Arthritis(n=7)

	Increase in paw edema (%)			
	15days (1st)	17days (3rd)	21days (7th)	23days (9th)
Control	68.1 ± 6.7	73.2 ± 6.9	86.2 ± 4.7	91.9 ± 11.1
Ketoprofen	61.5 ± 11.1	66.1 ± 8.9	58.8 ± 2.5	58.6 ± 8.4
Mylabris 20mg/kg	68.9 ± 5.7	34.0 ± 6.9	48.4 ± 2.7	37.0 ± 3.1
Mylabris 50mg/kg	71.7 ± 2.2	33.5 ± 2.7	38.0 ± 3.4	27.0 ± 5.6
Cantharidin 0.2mg/kg	77.4 ± 5.1	60.1 ± 4.7	57.0 ± 0.9	40.8 ± 4.6
Cantharidin 0.5mg/kg	74.5 ± 10.9	54.2 ± 4.1	49.7 ± 0.9	35.6 ± 4.2

및 cantharidin 0.2mg/kg 投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 減少하였으나 血清中 creatinine의 濃度는 藥物投與에 依한 變化는 없었다(Fig. 4).

血清中 ALT의 濃度는 斑猫와 cantharidin 投與에 對하여 變化가 없었으며, ketoprofen에서는 增加하였지만 有意性은 없었다(Fig. 4). 血清中 AST의 濃度는 斑猫

藥物投與에 依해 PROD는 對照群에 比해 有意性 있는 增加는 보이지 않았으며, EROD는 cantharidin 0.5mg/kg 投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 增加하였지만 다른 藥物投與群에 影響을 받지 않았다(Fig. 6).

Clorzoxazone hydroxylase(cytochrome P450 2E)와 testosterone 7 α -hydroxylase(cytochrome P450 2A)는

adjuvant 關節炎 誘發에 依해 影響을 받지 않았으며 藥物投與에 對해서도 影響을 받지 않았다(Fig. 6).

5. Hyaluronidase 活性 抑制에 對한 影響

Hyaluronidase는 毛細血管透過性的 亢進 및 炎症 部位에서 結合組織의 matrix를 分解함으로써 起炎劑로 作用한다는 報告⁴⁸⁾에 따라 cantharidin이 hyaluronidase 活性을 抑制하는가를 檢討하였다. Cantharidin은 1mM濃度에서도 hyaluronidase의 活性 抑制 效果를 나타내지 않았다.

IV. 考 察

斑猫의 成分은 cantharidin을 約 1.2%含有하고 以外에 도 脂肪, 樹脂質, 蟻酸, 色素 등으로 構成되어 있으며¹⁻²⁴⁻⁶⁸⁾, 그 含量은 種類와 産地에 따라 다르다¹⁰⁾. 斑猫의 毒性은 cantharidin이라는 強力한 防禦物質에 依하는데, cantharidin은 斑猫 수컷의 生殖腺에서 生合成되어 交尾하는 동안 암컷에 多量 傳達된다고 알려져 있다¹⁹⁻²⁰⁾.

Cantharidin은 皮膚刺戟劑로 皮膚에 塗布時 epidermal protease를 活性化시켜 類棘層萎縮(acantholysis)을 일으키므로⁵⁴⁻⁵⁶⁾, 傷處 治療에 利用한다⁵⁷⁻⁵⁹⁾. Cantharidin이나 斑猫를 經口投與하면 胃腸管과 尿管의 epithelial lining에 甚한 刺戟이나 潰瘍이 誘發되며⁶⁰⁻⁶³⁾, 最近에는 cantharidin이 肝, 腎, 腦, 肺, 心, 皮膚, 胃, 皮膚, 脾에서 protein phosphatase 1, protein phosphatase 2A를 選擇적으로 抑制한다고 밝혀졌다⁶⁴⁻⁶⁶⁾. 또한 毒性試驗에서 病變은 心臟, 腎臟, 肝臟에 集中되며, mouse에 依한 LD₅₀은 25γ/20g이고, 安全治療投與量은 15γ/20g이므로 治療量과 中毒量의 差가 매우 가까운 것을 알 수 있으며⁸⁾, 臨床實驗에서 cantharidin은 primary hepatoma와 다른 carcinoma에 有效하였으나 尿路에 副作用이 나타난다⁶⁷⁾고 報告되었다.

性味에 있어서 李 등^{211-15,16-18)}은 “辛, 寒, 有毒”하고, 特히 毒性이 強하여 李 등^{12-15,17,68-69)}은 “不可生用이니 生用하면 吐瀉한다”고 하였으며, 藥으로 쓸 때는 頭, 足, 翹를 除去하고 糯米가 微黃하게 될 때까지 炒한 後 糯米를 除去하고 研末하여 使用한다^{14,10,12,14,18,21)}고 하였다.

效能 및 主治에 對하여 神農本草經³⁾에서는 “寒熱鬼注 蟲毒鼠癩惡創疽蝕邪肌破 石癰”한다고 하였으며, 李¹⁴⁾는 “治疔瘰, 解疔毒, 獾犬毒, 沙虱毒, 蟲毒, 輕粉毒”한다고 하였고, 汪 등^{17,68)}은 外用하여 “蝕邪肌, 敷疥癬, 惡瘡”하

고 內服하면 “破石淋, 拔癰瘻疔腫”한다고 하였다. 最近에 斑猫는 局所刺戟作用, 抗炎症作用, 抑菌作用, 殺蟲作用, 抗癌作用, 白血球數增加作用 등의 藥理作用이 있다^{4-7,9-10)}고 하였다.

關節炎은 外傷, 感染, 代謝異常, 免疫異常 및 腫瘍 등 여러가지 原因에 依해 疼痛, 腫脹, 硬直, 發赤, 發熱, 運動障礙가 나타나는 關節의 炎症性疾患⁷⁰⁻⁷¹⁾으로써, 韓醫學에서의 歷節風^{13,15,22-27)}, 鶴膝風²⁵⁾, 白虎歷節風^{13,15,22,23-24,28-30)}, 痛風^{13,23-24,26,28,31-32)}, 痺症^{13,22,24,28,30-31,33-38)} 등의 範疇에 該當하는 것³⁹⁻⁴⁰⁾으로, 張²²⁾은 風痺一症이 痛風이라 하였고, 許¹⁵⁾는 痛風症이 全身關節을 循環하면서 痛症을 誘發할 때 歷節風이라 하였다.

關節炎의 原因에 對해 《素問·痺論》³³⁾에서는 “風寒濕三氣雜至, 合而爲痺也. 其風氣勝者爲行痺, 寒氣勝者爲痛痺, 濕氣勝者爲着痺也”라하여 風寒濕 外氣를 痺症의 重要한 原因으로 言及했으며, 張⁷²⁾은 疲勞·汗出 後에 風邪가 侵入하므로 發生한다고 하였으며, 巢²⁷⁾는 飲酒로 因해 腠理가 開하여 汗出後에 風邪가 侵入하여 생긴다고 하였고, 朱³⁰⁾는 風寒濕熱·痰飲 및 瘀血로 因한다고 하였으며, 李¹³⁾는 六淫·七情·風濕 및 痰飲으로 因한다고 하였다.

症狀은 局所症狀으로 肢體, 筋肉, 關節 등의 疼痛, 痠楚, 麻木, 重着, 屈伸不利, 關節腫脹 등이 있고⁷³⁻⁷⁶⁾, 全身症狀으로는 短氣·自汗出 등^{15,24,27,29)}이 있다. 痺症은 그 原因과 症狀의 輕重에 따라서 區分되기도 하는데²²⁾, 風痺는 風의 善行數變하는 陽的인 性質로 因하여 痛症이 上下左右로 遊走하고 無定處하며 惡寒·發熱·舌苔薄白或膩·脈浮 등 症을 兼發하는 것으로 一名 行痺 또는 歷節風이라고도 하고, 濕痺는 性質이 緩한 濕邪가 人體의 皮肉筋脈에 侵犯하여 濕의 易滯固着하는 陰的인 性質로 因하여 疼痛部가 固定되어 移動하지 않으므로 一名 着痺라고도 하고 肢體에 重滯感·麻木·浮腫·脈濡緩·苔白 등 症이 있으며, 寒痺는 寒邪의 性質이 甚하여 氣血을 凝固시키고 痛處不移·四肢關節冷痛·脈弦緊·苔白·全身 或은 局部에 極烈한 疼痛이 있어 一名 痛痺라고도 하며, 熱痺는 風濕이 熱을 兼하거나 或은 寒邪가 熱로 傳化된 것으로 皮膚가 灼熱하고 脈數·苔黃하고 局部에 發赤, 腫脹, 熱感, 疼痛 등이 있다^{70,73-76)}.

治療에 있어서는 風邪가 偏甚할 때는 祛風을 爲主로 하고 佐로 散寒利濕시키며^{73-75,77)}, 寒邪가 偏甚할 때는 散寒을 主로 하고 佐로 祛風除濕하며^{73-75,77)}, 濕邪가 偏甚할 때는 利濕을 主로 하고 佐로 祛風散寒을 目標로 하고^{73-75,77)}, 熱에 偏甚하면 清熱을 主로하고 佐로 祛風除濕을

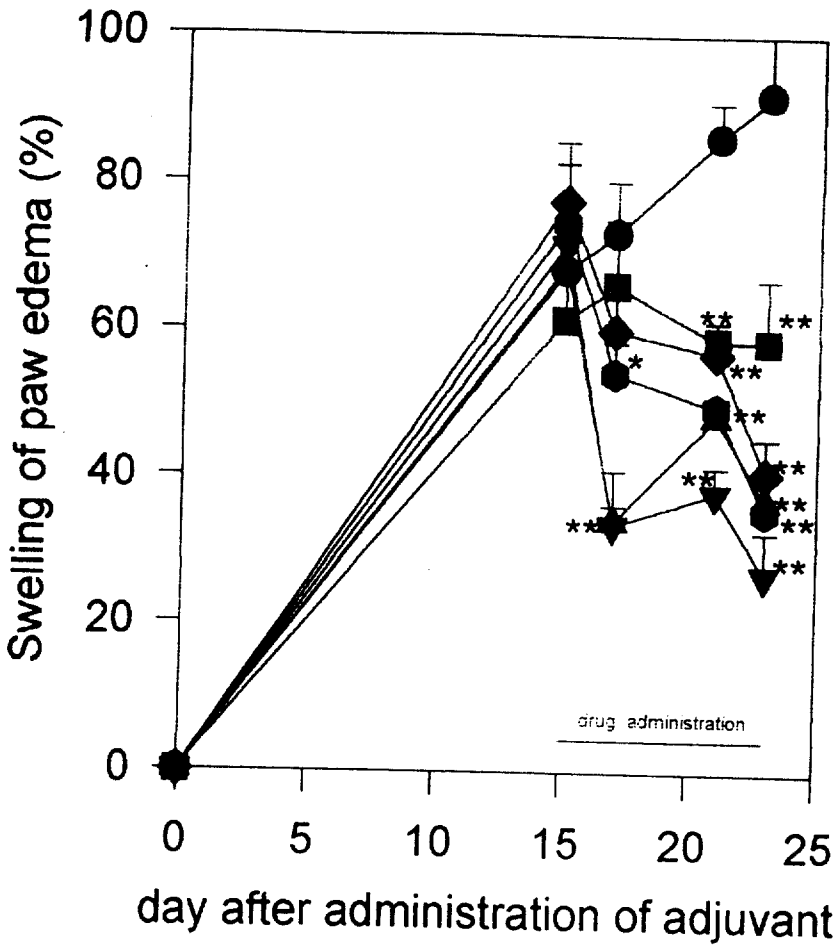


Fig. 2. Effects of Ketoprofen, Beetle and Cantharidin on Adjuvant-induced Arthritis in Rats.

* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (compared with control group)

● : control ■ : ketoprofen 10mg/kg

◆ : cantharidin 0.2mg/kg

◐ : cantharidin 0.5mg/kg

▲ : beetle 20mg/kg ▼ : beetle 50mg/kg

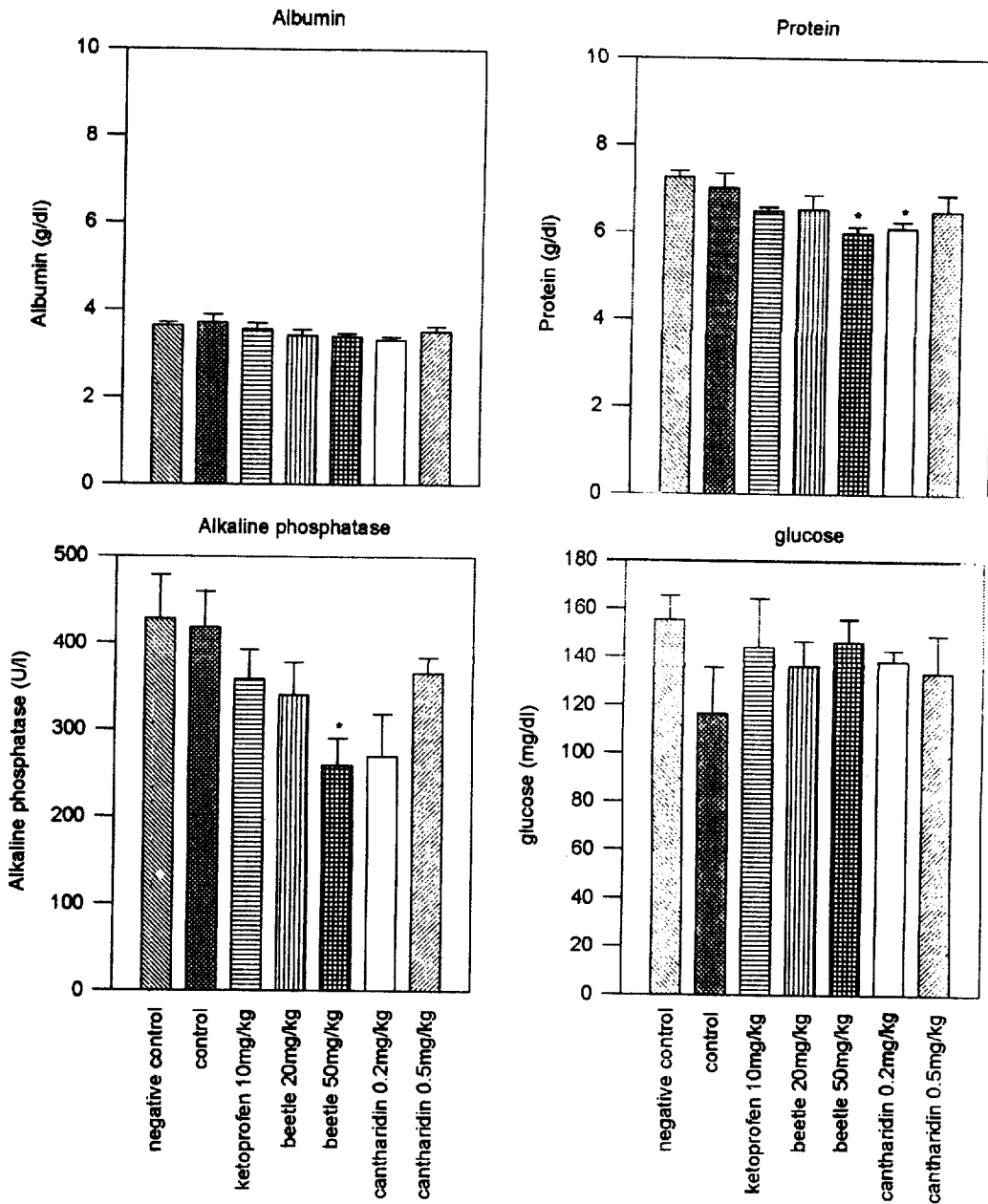


Fig. 3. Effects of Beetle, Cantharidin and Ketoprofen on Serological Parameters such as Albumin, Protein, Alkaline Phosphatase and Glucose in Rats.

* : p < 0.05 (compared with control group)

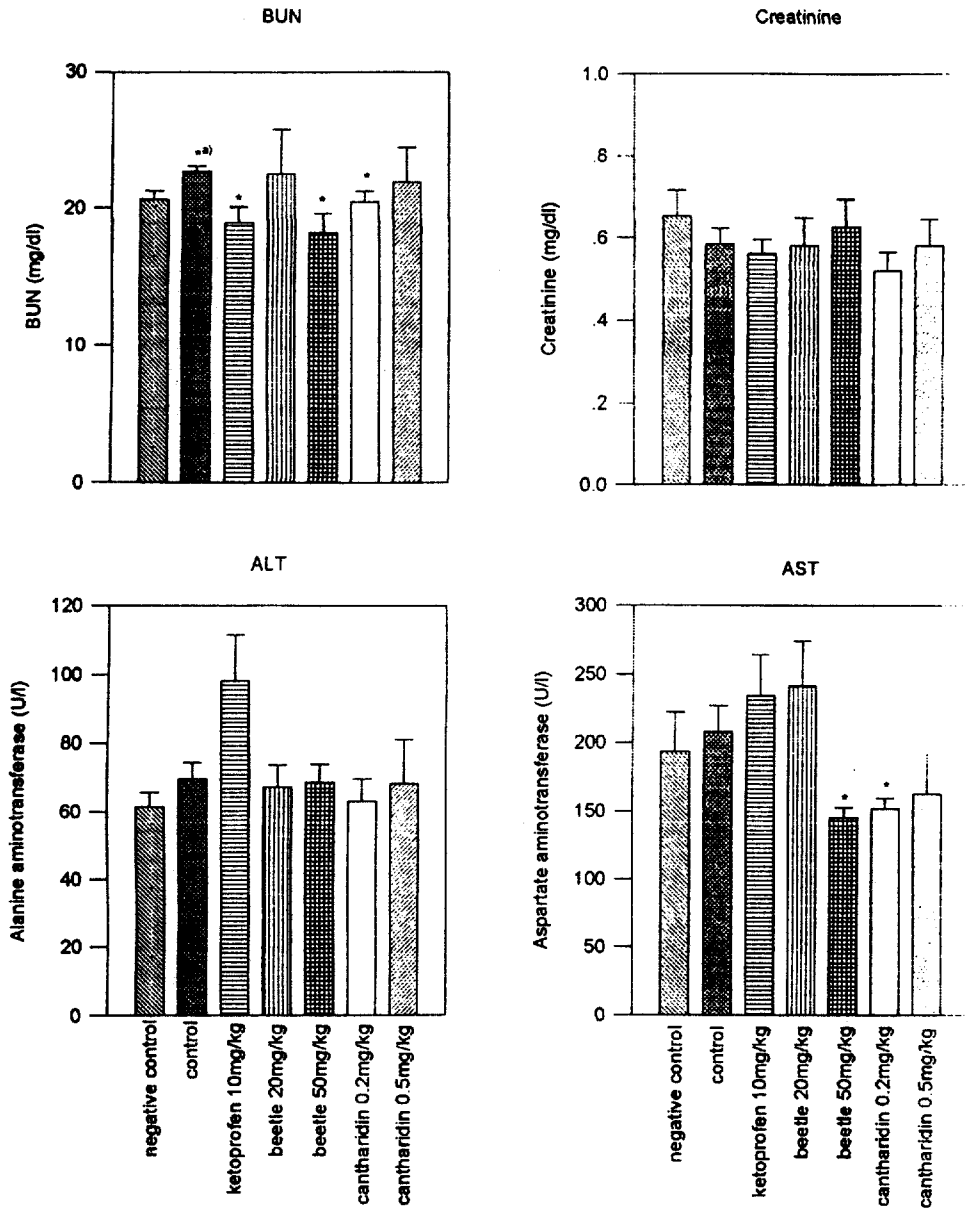


Fig. 4. Effects of Beetle, Cantharidin and Ketoprofen on Serological Parameters such as Blood Urea Nitrogen, Creatinine, Alanine Aminotransferase and Aspartate Aminotransferase in Rats.

*^a : $p < 0.05$ (compared with negative control group)

* : $p < 0.05$ (compared with control group)

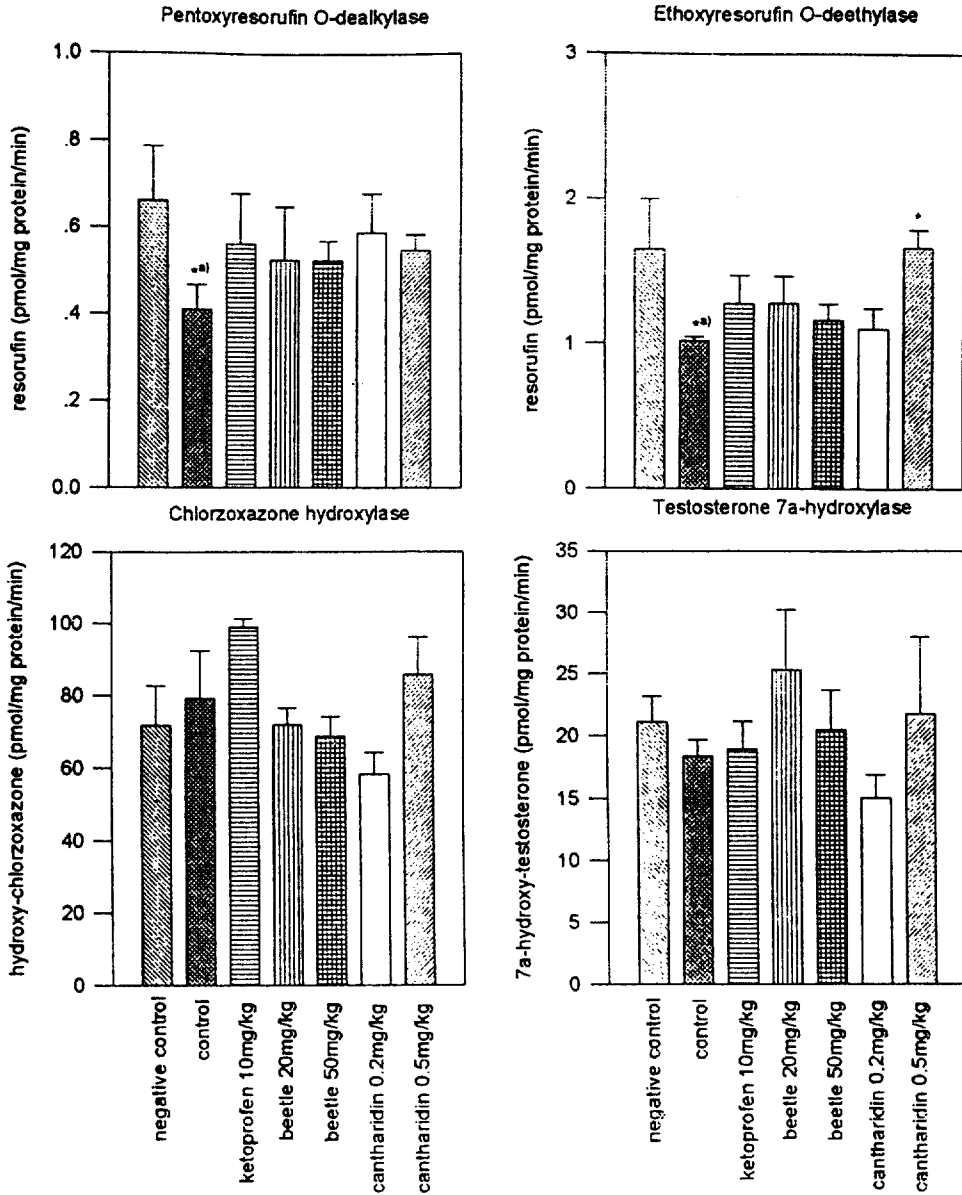


Fig. 6. Effects of Beetle, Cantharidin and Ketoprofen on Hepatic Drug Metabolizing Enzymes such as Pentoxeresorufin O-dealkylase (P450 2B), Ethoxyresorufin O-deethylase(P450 1A), Chlorzoxazone hydroxylase(P4502E) and Testosterone 7α-hydroxylase(P450 2A) in Rats.

*^{a)}: p < 0.05 (compared with negative control group)

* : p < 0.05 (compared with control group)

한다⁷⁴⁻⁷⁵.

이와같이 風寒濕에 의하여 나타나는 諸症狀은 全身炎症性疾患인 류마티스樣 關節炎과 類似的한 點이 많다^{39-40,70,77}.

主로 自家免疫이나 遺傳이 原因이 되는 류마티스樣 關節炎^{71,78-82}은 多發性으로 兩側이 똑같은 關節에서 對稱性 關節炎을 일으키는 것이 特徵하는 全身疾患으로^{71,78-83}, 初期에는 疼痛, 浮腫 등이 나타나고 病이 進行됨에 따라 特히 아침에 가장 甚하게 關節強直症狀이 나타나며, 侵犯된 關節部位의 腫脹, 壓痛, 局所發熱과 함께 움직이면 痛症을 呼訴하며 結局 完全한 關節強直과 變形으로 機能을 喪失하게 된다^{71,78-82}.

斑猫에 含有된 cantharidin의 含量은 種 및 性에 따라 매우 多樣하므로¹⁰, 本 實驗에서 使用된 斑猫中の cantharidin을 定量하며 斑猫의 修治方法에 따라 有效成分으로 推測되면서 中毒成分인 cantharidin의 含量에 어떠한 影響을 미치는가를 檢討하고자 斑猫中の cantharidin을 GC法을 利用하여 分析하였다. 本 實驗에 使用한 乾燥 斑猫中에 cantharidin은 若 $1.24 \pm 0.05\%$ 含有되었고, 斑猫를 炒한 後의 cantharidin 含量은 $1.10 \pm 0.12\%$ 로 有意性 있는 變化가 없었으나, 斑猫의 頭, 足, 翅를 除去하고 糯米와 炒한 方法에서는 cantharidin의 含量이 有意性 있게 減少되었다 (Table 1). 頭, 足, 翅를 除去 後에 cantharidin 含量의 減少는 斑猫가 外部刺激에 對해 다리에서 cantharidin을 排泄한다는 報告²⁰에 根據하여 說明할 수 있으리라 思料된다.

Adjuvant 關節炎은 慢性 류마티스 關節炎과 類似的한 點이 많고 發生機轉에 遲發型 알레르기가 關及하고 있다⁴⁰고 한다. Adjuvant 關節炎에 對한 各種 抗炎症劑의 效果는 慢性 류마티스 關節炎에 對한 臨床效果와 相關性이 크므로⁵⁰⁻⁵², 抗류마티스劑나 免疫抑制劑의 研究 및 스크리닝에 널리 利用되고 있다.

Adjuvant 注射 直後 14日間 藥物을 投與하면 抗炎症藥의 adjuvant 關節炎 發症抑制效果를 評價하는 것이고, adjuvant 關節炎에 對한 治療效果試驗을 하기 爲해서 大部分 藥物投與는 adjuvant 注射後 15-18日 頃부터 始作한다⁵³.

玄⁴³은 rat에 adjuvant를 注射한 後부터 14日間 斑猫 10mg/kg 및 30mg/kg을 投與하여 斑猫에 依해 adjuvant 關節炎의 發症이 抑制되었다고 報告하였는데, 本 實驗에서는 斑猫의 adjuvant 關節炎에 對한 治療效果 및 cantharidin이 抗關節炎效果를 나타내는 斑猫의 有效成分인지를 檢討하고자 adjuvant를 注射하고 14日에 關節炎이 誘發된 rat를 골라서 斑猫와 cantharidin을 10日間 經口投與하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 斑猫(頭, 足, 翅 除去後 糯米와 炒한 것) 20mg/kg 및 50mg/kg投與群과 cantharidin 0.2mg/kg 및 0.5mg/kg投與群에서 各各 有意性 있는 抗關節炎效果가 觀察되었으며, 現在 關節炎 治療에 널리 使用되고 있는 非

스테로이드性 消炎鎮痛劑인 ketoprofen 10mg/kg投與群보다 強한 抗關節炎效果를 나타내었다.

Cantharidin이 肝의 congestion이나 edema를 誘發하기도 하며^{62,84-85}, 肝의 protein phosphatase 1 및 protein phosphatase 2A를 抑制한다⁶⁴⁻⁶⁶고 報告되었으므로, 斑猫 및 cantharidin의 投與가 肝 毒性을 誘發하는지를 檢討하고자 血清中 AST 및 ALT에 對한 影響을 檢討한 結果 斑猫 50mg/kg投與群과 cantharidin 0.2mg/kg投與群에서 AST가 有意性 있게 減少하였고, cantharidin 0.5mg/kg投與群에서도 AST가 減少되었으나 有意性은 없었다.

腎臟毒性을 觀察하고자 血清中 BUN 및 creatinine에 對한 影響을 檢討한 結果 ketoprofen, 斑猫 50mg/kg投與群 및 cantharidin 0.5mg/kg投與群은 正常群에 比해 增加된 對照群의 BUN值를 正常值 水準으로 減少시켰고, creatinine에는 影響을 미치지 않았으므로 本 實驗에서 使用된 投與用量에서는 腎臟毒性에 影響을 미치지 않았다고 思料된다.

ALP 및 α -2-glycoprotein은 關節炎에서 增加하는데, ALP는 斑猫 50mg/kg投與群에서 有意性 있게 對照群에 比해 減少되었으며 cantharidin 0.5mg/kg投與群에서도 減少되었다.

Albumin은 急·慢性肝炎, 肝硬變症 등 肝에 甚한 破壞 現狀이 同伴되면 低下되고, protrin의 減少는 骨液膜에 炎症이 發生할 境遇, 組織의 透過性을 亢進시켜 炎症을 抑制한다는 것을 意味한다⁸⁵. 斑猫 50mg/kg投與群과 cantharidin 0.5mg/kg投與群에서 albumin의 含量은 變化하지 않고 protein만이 減少되었다.

血清 Cholinesterase는 肝에서 生成되어 血中에 供給되며 Cholinesterase에 對한 臟器防禦에 必要한 物質로 알려져 있고⁸⁷, 肝疾患 特히 肝實質障礙에 依해 活性低下를 일으키므로 肝機能檢査의 하나로써 重要하다⁸⁶.

Cholinesterase는 ketoprofen와 斑猫 및 cantharidin 投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 減少하였다.

藥物을 長期間 投與하는 境遇에 肝의 藥物代謝酵素가 影響을 받는 境遇가 있다. 또한 adjuvant 關節炎 誘發 rat에서 肝의 藥物代謝酵素(cytochrome P450)가 低下되고 消炎鎮痛劑를 投藥하면 다시 增加한다는 報告가 있다⁸⁸.

本 實驗에서도 關節炎 誘發 rat에서 PROD(cytochrome P450)와 EROD(cytochrome P450 1A)가 正常群에 比해 有意性 있게 減少되었으며 PROD는 藥物投與에 依해 增加되지 않았고 EROD에서 cantharidin 0.5mg/kg投與群에서는 有意性 있게 增加하여 正常群 水準이었다. 그러므로 斑猫나 cantharidin은 投與用量에서 肝의 藥物代謝酵素 卽, cytochrome P450, 2B, 1A, 2A 및 2E에 對하여 影響을 미치지 않았음을 알 수 있었다.

以上の 實驗 研究 結果로 斑猫는 cantharidin 投與群에서

모두 뚜렷한 抗炎症效果가 나타났으므로, 斑猫의 抗炎症效果는 斑猫의 主成分인 cantharidin에 依한 것으로 思慮된다.

V. 結 論

斑猫와 斑猫의 主成分인 cantharidin의 抗炎症效能에 對한 有意性을 比較하기 爲하여 adjuvant 關節炎을 誘發한 實驗動物에 斑猫와 cantharidin을 經口投與하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 斑猫의 頭, 足, 翅를 除去 後 糯米와 炒한 修治 方法에서 cantharidin 含量이 有意性 있게 減少하였다.
2. Adjuvant arthritis에 對하여 斑猫 20mg/kg, 50mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg, 0.5mg/kg投與群에서 有意性 있는 抗炎症效果가 나타났다.
3. Protein 濃度는 斑猫 50mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 減少하였다.
4. ALP의 濃度는 斑猫 50 mg/kg投與群에서 對照群 및 正常群에 比해 有意性 있게 減少하였다.
5. BUN 濃度는 斑猫 50mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 減少하였다.
6. AST의 濃度는 斑猫 50mg/kg 및 cantharidin 0.2mg/kg投與群에서 對照群 및 正常群에 比해 有意性 있게 減少하였다.
7. Cholinesterase는 ketoprofen, 斑猫 및 cantharidin 投與群에서 有意性있게 減少하였다.
8. 對照群은 正常群에 比해 肝의 藥物代謝酵素中 PROD(cytochrome P450 2B)와 EROD(cytochrome P450 1A)가 有意性 있게 抑制되었고, EROD는 cantharidin 0.5mg/kg投與群에서 對照群에 比해 有意性 있게 增加하였다.
9. Cloroxazone hydroxylase(cytochrome P450 2E)와 testosterone 7 α -hydroxylase(cytochrome P450 2A)는 藥物投與에 影響을 받지 않았다.

以上的 實驗 研究 結果로 斑猫는 cantharidin 投與群에서 모두 뚜렷한 抗炎症效果가 나타났으므로, 斑猫의 抗炎症效果는 斑猫의 主成分인 cantharidin에 依한 것으로 思慮된다.

參 考 文 獻

1. 康秉秀 氏: 本草學, 서울, 永林社, p646, 1991.
2. 安德均 氏: 韓藥臨床應用, 서울, 成龍社, p537, 1990.
3. 陶弘景: 神農本草經, 北京, 人民衛生出版社, p123, 1982.
4. 郭曉莊 氏: 有毒中毒藥物大辭典, 天津, 天津科技翻譯出版社, pp536~537, p540, 1994.

5. 楊倉良 氏: 毒藥本草, 北京, 中國中醫藥出版社, pp994~995, p999, 1988.
6. 新文豐出版公司: 中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, pp1974~1975, 1983.
7. 莊國康 氏: 中藥中毒與解救, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp187~188, 1991.
8. 洪性範: 臨床抗毒中草藥, 서울, 成龍社, pp43~45, 1990.
9. 洪元植: 現代中共의 瘧治療, 서울, 英文社, pp235~236, 1984.
10. 동의학연구소: 東醫學叢書 9권(藥物性毒藥), 서울, 여강출판사, pp161~164, 1994.
11. 大田大學校 韓醫科大學 第9期 卒業準備委員會: 國譯藥液本草, 서울, 大星文化社, p389, 1996.
12. 辛民敦 氏: 國譯藥毒藥集成方下, 서울, 永林社, p1724, 2010, 1989.
13. 李 挺: 醫學入門, 서울, 南山堂, p888, 1449, 1454, 1991.
14. 李時珍: 本草綱目, 北京, 人民衛生出版社, pp2269~2270, 1977.
15. 許 浚: 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p370, 372, 708, 1976.
16. 唐慎微: 重修政和經史證類備用本草, 臺北, 南天書局有限公司, p448, 1977.
17. 楊東喜: 本草藥要解析, 新竹, 國興出版社, pp654~655, 1976.
18. 辛民敦: 原色臨本本草學, 서울, 永林出版社, p712, 1989.
19. J.E. Carrel, J.P. Doorn and J.P. McCormick: Cantharidin biosynthesis in a blister beetle, *Experientia*, 42:853~854, 1986.
20. J.E. Carrel, M.H. McCaird, A.J. Sagle, J.P. Doorn, J. Brill and J.P. McCormick: Cantharidin production in a blister beetle, *Experientia*, 49:171~174, 1993.
21. 朴美鈴 氏: 斑猫에 關한 文獻의 考察, 大韓韓方內科學會誌, 15(2): 18, 1994.
22. 張介賓: 景岳全書(上), 서울, 大星文化社, p229, 232, 234, 1988.
23. 康命吉: 濟東新編, 서울, 杏林書院, p8, 10, 1982.
24. 金定濟: 診癩要鑑, 서울, 東洋醫學研究院, p463, 1991.
25. 崔容泰 氏: 精神醫藥學, 서울, 杏林書院, p848, 1974.
26. 朴炳昆: 韓方臨本四十年, 서울, 大光文化社, p343, 1989.
27. 巢元方: 巢氏諸病源候論, 北京, 人民衛生出版社, p51, 1983.
28. 林瑛琴: 類證治裁, 臺北, 旋風出版社, p322, 328, 336, 1979.
29. 曹 佶: 聖濟總錄(上卷), 北京, 人民衛生出版社, p312, 1987.
30. 方 廣: 丹溪心法附餘, 서울, 大星文化社, p214~216, 1982.
31. 唐宗海: 血證論, 서울, 一中社, p168, 1992.
32. 李東垣: 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, p480, 1983.
33. 洪元植: 精校黃帝內經 素問·靈樞, 서울, 東洋醫學研究院出版部, 素問: p74, 162, 靈樞: p147, 1985.
34. 吳 謙 氏: 醫宗金鑑(上冊), 北京, 人民衛生出版社, p20, 1982.
35. 李中梓: 醫宗必讀, 上海, 上海科學技術出版社, p309, 1987.
36. 張子和: 儒門事親(卷四), 臺北, 旋風出版社, p7, 1979.
37. 王清任: 醫林改錯, 서울, 一中社, p114, 1992.
38. 楊耀洲: 鍼灸大成, 서울, 大星文化社, p410, 1990.
39. 권영달 氏: 류머티스性 關節炎에 對한 東西醫學의 考察, 大韓韓醫學會誌, 15(2): 334, 1994.
40. 김순중 氏: 歷節風에 關한 文獻의 考察, 惠和醫學, 1(1): 76, 1992.
41. 崔鍾鎬 氏: 斑猫天灸가 류머티스性 關節炎患者의 鎮痛效果에 對한 臨床報告書, 惠和醫學, 1(1), 1990.

42. 李炳昊 : 斑蟊毒에 白鼠의 Adjuvant關節炎에 미치는 影響, 大田大學校 碩士論文, 1996.
43. 支福禧 : 斑蟊의 鎮痛·消炎效果와 尿中 creatinine排泄量 및 Cantharidin含量에 關한 研究, 慶熙大學校 博士學位論文, 1986.
44. J.R. Ward and R.S. Jones : Studies on adjuvant-induced polyarthritis in rats. I. Adjuvant composition, route of injection, and removal of depot site. *Arthr. & Rheum.*, 5:557-564, 1962.
45. T.C. Jeong, H.J. Kim, C.H. Yun, S.S. Lee, K.H. Yang, S.S. Han and J.K. Rho : Induction of liver cytochrome P450 2B1 by β -ionone in Sprague Dawley rats. *Biochem Biophys Res Commun.*, 216:198-202, 1995.
46. F.P. Guengerich and D.H. Kim : Enzymatic oxidation of ethylcarbamate to vinyl carbonate and its role as an intermediate in the formation of 1,N⁶-ethenoadenosine. *Chem Res Toxicol.*, 4:413-421, 1991.
47. H. Yamazaki, M. Mimura, C. Sugahara and T. Shimada : Catalytic roles of rat and human cytochrome P450 2A enzymes in testosterone 7 α - and coumarin 7-hydroxylations. *Biochem Pharmacol.*, 48:1524-1527, 1994.
48. N. Nahan, J. Arson and E.A. Davidson : Lysosomal hyaluronidase. *J. Biol. Chem.*, 240:3222, 1965.
49. C.M. Pearson : Arthritis in animals, in *Arthritis and Allied conditions*, Ed. J.L. Hollander and D.J. McCarty, 8th ed, p.195, Lea and Febiger, 1972.
50. B.B. Newbould : Chemotherapy of arthritis induced in rats by mycobacterial adjuvant. *Brit. J. Pharmacol.*, 21:127, 1963.
51. J.R. Ward and R.S. Cloud : Comparative effect of antirheumatic drugs on adjuvant-induced polyarthritis in rats. *J. Pharmacol. Exper. Therap.*, 152:116, 1966.
52. C.A. Winter and G.W. Nuss : Treatment of adjuvant arthritis in rats with antiinflammatory drugs. *Arthr. and Rheum.*, 9:394, 1966.
53. 藤平榮一 : Screening의 方法과 問題點-adjuvant關節炎による 抗炎症藥의 檢定法. *應用藥理*, 51:69-183, 1971.
54. O.P.F. Clausen : Regenerative proliferation of mouse epidermal cells following application of a skin irritant (cantharidin). *Cell Tissue Kinet.*, 12:135-144, 1979.
55. L. Dubertret, B. Bertaux, M. Fosse and R. Touraine, Koebner : phenomenon induced by topical cantharide in psoriatics : a consequence of epidermal protease activation. *J. Invest. Dermatol.*, 80:362, 1983.
56. C. Pierard-Franchimont and G.E. Pierard : Cantharidin-induced acantholysis. *Am J. Dermatopathol.*, 10:419-423, 1988.
57. W.L. Epstein and A.M. Kligman : Treatment of warts with cantharidin. *Arch. Dermatol.*, 77:508-511, 1958.
58. E.W. Rosenberg, R.A. Amonette and J.H. Gardner : Cantharidin treatment of warts at home. *Arch. Dermatol.*, 113:1134, 1977.
59. R.J. Coskey : Treatment of plantar warts in children with a salicylic acid-podophyllin-cantharidin product. *Pediatr. Dermatol.*, 2:71-73, 1984.
60. L.C. Nickolis and D. Teare : Poisoning by cantharidin. *Br. Med. J.*, 21:384-386, 1954.
61. V.R. Beasley, G.A. Wolf, D.C. Fischer, A.C. Ray and W.C. Edwards : Cantharidin toxicosis in horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 182:283-284, 1983.
62. T.R. Schoeb and R.J. Panciera : Pathology of blister beetle poisoning in horses. *Vet. Pathol.*, 16:18-31, 1979.
63. R.V. Shawley and L.L. Roff : Experimental cantharidiasis in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 45:2261-2266, 1984.
64. M.J. Graziano, I.N. Pessah, M. Matsuzawa and J.E. Casida : Partial characterization of specific cantharidin binding sites in mouse tissues. *Mol. Pharmacol.*, 33:706-712, 1988.
65. Y.M. Li and J.E. Casida : Cantharidin-binding protein: identification as protein phosphatase 2A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 89:11867-11870, 1992.
66. R.E. Honkanen : Cantharidin, another natural toxin that inhibits the activity of serine/threonine protein phosphatase types 1 and 2A. *FEBS Letters*, 330:283-286, 1993.
67. G.S. Wang : Medical uses of mylabis in ancient china and recent studies. *J. Ethnopharmacol.*, 26:147-162, 1989.
68. 黃宮謙 : 本草求真, 서울, 一社社, p.247, 1992.
69. 黃道淵 : 方藥合編, 서울, 南山堂, p.290, 1984.
70. 金定濟 : 最新藥學, 서울, 成報社, pp.610-612, 1991.
71. 李文鎬 : 內科學(下卷), 서울, 學林社, p.1683, pp.1685-1688, 1979.
72. 張仲景 : 仲景全書, 서울, 大星文化社, pp.369, 1988.
73. 具本私 : 東醫心系內科學, 서울, 書苑堂, pp.248-251, 1991.
74. 董梁明 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, p.554, pp.557-568, 1986.
75. 張伯臬 : 中醫內科學, 北京, 北京人民衛生出版社, p.627, pp.631-633, 1988.
76. 楊甲三 : 藥學, 北京, 人民衛生出版社, p.618, 1989.
77. 姜允浩 : 東醫臨床內科學, 서울, 書苑堂出版社, pp.196-198, 1990.
78. 申鉉大 : 東醫物理療法科學, 서울, 高文社, pp.268-269, 1986.
79. 大韓整形科學會 : 整形科學, 서울, 大韓整形科學會, pp.109-110, 1992.
80. 大韓病理學會 : 病理學, 서울, 高文社, pp.1213-1214, 1990.
81. 醫學教育研究院 : 家庭醫學, 서울, 서울大學校出版社, p.706, 1985.
82. 許仁會 : 疾病과 藥物, 서울, 정서림, pp.443-445, 1991.
83. 金景煥 : 最新內科藥物療法, 서울, 書苑堂, p.439, 1991.
84. F.K. Bagatell, K. Dugan and G.F. Wilgram : Structural and biochemical changes in tissues isolated from the cantharidin-poisoned rat with special emphasis upon hepatic subcellular particles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 15:249-261, 1969.
85. M.J. Graziano and J.E. Casida : Comparison of the acute toxicity of endothal and cantharidin acid on mouse liver in vivo. *Toxicol. Lett.*, 37:143-148, 1987.
86. 이귀녕 : 임상병리파일, 서울, 의학문화사, p.172, 218, pp.242-243, 1993.
87. Robert G. S. : Serum cholinesterase deficiency I: Disease and inheritance. *Brit. J. Anesth.* 38:355, 1986.
88. A. Toda, N. Ishii, T. Kihara, A. Nagamatsu and H. Shimeno : X-eno biotica, 26:603-611, 1994.