

Analgesic Effect of *Syneilesis aconitifolia* Maxim. Extract on Animal Pain Model

Gil-Hyun Lee^{†,*}

Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 54538, Korea

The aim of this study is to investigate the analgesic effects of *Syneilesis aconitifolia* Maxim. extract (SAM). We evaluated analgesic effects of SAM on animal pain model. Male SD rats were administered intra-orally with SAM according to prescribed dosage. During 7 days. After 7 days later, serum TNF- α , IL-1 β , and IL-6 levels were measured by ELISA. In our experiment, administration of SAM decreased IL-1 β , IL-6, TNF- α and PGE2 level in serum. Furthermore, it was confirmed that allodynia was relieved in evaluation of pain behavior. It was confirmed that administration of SAM reduces nociceptive pain by reducing nociceptive stimuli by acting as an anti-inflammatory drug.

Key Words: *Syneilesis aconitifolia* Maxim., Animal pain model, Nociceptive pain, TNF- α , IL-1 β , IL-6

서 론

신체조직이 손상되면 생체의 이상을 알리는 경고신호로 작용하는 통증은 신체를 보호하기 위한 방어기체이다. 통증은 주로 구심성 일차섬유(C-fiber)의 유수섬유(A delta-fiber) 활성화로 발생한다(Staud et al., 2008). 신체의 손상을 주거나 줄 수 있는 자극에 대하여 잘 반응한다고 알려진 C-유해수용기(nociceptor)가 일차섬유를 활성화시켜 통증에 기여한다(Djoughri et al., 2006; Ahlgren et al., 1996). 통증은 신경병증성 통증(neuropathic pain), 침해성 통증(nociceptive pain), 그리고 염증성 통증(inflammatory pain)로 분류된다. 이중 침해성 통증은 역치 이상 자극으로 인해 유해수용기가 민감해지면 느끼는 통증으로 다양한 통각수용체(온도, 다형, 기계 등)에 의하여 조절된다(Woolf, 2011).

침해성 통증의 대표적 자극인자인 기계적 자극, 열 등과 같은 유해한 자극에 의해 조직이 손상되면 다음과 같은 반응이 일어난다. 먼저 세포막에 존재하는 phospho-

lipase A (PLA)의 활성화되어 arachidonic acid (AA)를 형성하며, AA는 cyclooxygenase (COX)에 대사되어 prostaglandin (PG)를 생성한다(Pardutz and Schoenen, 2010). 이러한 과정에서 손상 부위의 유해수용체에는 감각이 일어나고, 유해수용체의 역치가 낮아져서, 외부반응에 대응하는 과도한 흥분을 만든다(Dickenson and Suzuki, 2005). 따라서, 염증반응 단계에서 발생하는 인자를 조절하는 방법이 침해성 통증 치료 방법으로 사용되며, 그 방법으로 non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)는 COX-2의 작용을 제어하고, Steroids 계열 소염제는 PLA 작용을 억제하여 통증을 경감한다(Hunt and Mantyh, 2001; Mogil et al., 2010).

본 연구에서 사용된 애기우산나물(*Syneilesis aconitifolia* Maxim.)은 국화과의 다년생 식물로 민간과 한방에서는 요통, 타박상, 관절염, 월경통 및 종기 등의 치료제로 사용하였다(Lee et al., 2009). 애기우산나물에 대한 과거 연구는 항산화(Lee et al., 2009), 항바이러스(Jing et al., 2012) 등이 있다.

Received: September 12, 2023 / Revised: September 20, 2023 / Accepted: September 20, 2023

*Professor.

†Corresponding author: Gil-Hyun Lee. Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 54538, Korea.
Tel:*** - **** - **** Fax: +82-63-840-1219, e-mail: rokmagnum@naver.com

©The Korean Society for Biomedical Laboratory Sciences. All rights reserved.

©This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

애기우산나물은 민간에서 다양한 용도로 활용되고 있지만, 현재 애기우산나물의 침해성 통증모델에서 통증완화에 대한 연구는 거의 없는 편이며 이에 대한 자료를 찾기 힘든 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 애기우산나물의 진통효과를 확인하고자 실행하였으며, 소기의 성과가 있어서 연구 결과를 소개하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 효창 사이언스(Daegu, Korea)에서 공급받았다. 공기순환이 원활하고, 20~24℃ 온도와 주/야 순환주기의 일정한 환경을 유지하면서 물과 사료는 자유로이 공급하였다. 동물의 행동에 제약을 가하지 않으며, 무소음을 유지함으로써 실험 전 동물 스트레스를 최소화하였다. 본 연구는 의식이 있는 동물의 실험에 관한 Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)의 윤리적 규정에 따라 수행하였다. 동의대학교 동물윤리심의위원회의 승인 후(A2020-008) 실시하였다.

추출물의 제조

본 실험에 사용된 애기우산나물은 주식회사 나무사랑 원예에서 제공받아 사용하였다. 애기우산나물의 추출 방법은 분말로 파쇄한 후 70% ethanol 용매를 시료 중량의 10배 양을 가하여 혼합하여 실온에서 24시간 추출하였으며, 상층액과 침전물을 분리하였다. 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 천연추출물을 원심분리 및 여과, 농축(rotary vacuum evaporator, HS-10SP, Hanshin, Korea)하여 동결(FD5525, Korea) 건조하였고 이때 수득율은 1.65%였다.

시약준비

ELISA kit는 rat tumor necrosis factor alpha (TNF- α ; ab100785, Abcam, rat), rat interleukin 1 beta (IL-1 β , ab255730, Abcam, rat), interleukin 6 (IL-6, ab234570, Abcam, rat)를 사용하였다. DPPH (2,2 diphenyl 1-picryl hydrazyl), N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride, potassium ferricyanide, sul-anilamide, Xanthine oxidase, butylated hydroxyanisole과 Griess reagent는 Sigma (Louis, MO, USA)로부터 구입하였다. Incomplete Freund's adjuvant와 *Mycobacterium butyricum*은 Diffo (Detroit, MI, USA)에서 구입하였다.

DPPH (2,2 diphenyl 1-picryl hydrazyl) free radical 소거 활성

DPPH 소거 활성은 수정된 Molyneux (Molyneux, 2004)의 방법을 측정하였다. 2×10^4 M DPPH 500 μ L와 애기우산나물추출물 (0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 3.0 mg/mL)을 각각 혼합한 후 30분 동안 차광하여 반응한 다음 517 nm에서 흡광도를 ELISA reader (VERSA, USA)를 사용하여 측정하였다. 총 실험은 5회 반복하였으며, 전자공여능은 $100 \times [(시료혼합군의 흡광도/무혼합군의 흡광도) \times 100]$ 으로 나타내었다. 양성대조군으로 butylated hydroxyanisole (BHA)를 0.1 mg/mL의 농도로 하여 사용하였다.

Xanthine oxidase (XO) 저해활성 측정

Xanthine oxidase 활성은 Newaz 방법(Newaz and Adeeb, 1998)을 참고하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate 완충액(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 mL에 XO (0.25 U/mL) 100 μ L와 농도 별 시료 100 μ L를 첨가하고, 대조군에는 시료액 대신 증류수를 100 μ L를 첨가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 후, 20% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL를 첨가하여 반응을 종료시켰다. 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하고 상층액을 취하여 생성된 uric acid의 흡광도를 290 nm에서 측정하였다.

Reducing power 측정

Oyaizu의 방법(Oyaizu, 1986)에 따라 시료액 1 mL에 200 mM 인산 완충액(pH 6.6) 및 1% potassium ferricyanide 각 1 mL를 차례로 가한 다음 50℃의 수욕 상에서 20분간 반응시켰다. 여기에 10% TCA 용액을 1 mL 가하여 5,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 얻은 상층액 1 mL에 증류수 및 0.1%의 ferric chloride 각 1 mL를 가하여 혼합시킨 후 ELISA reader (VERSA, USA)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은 흡광도 값으로 나타내었다.

관절염 모델의 유도과 통증행동검사

쥐 관절염 동물모델은 Asquith의 방법(Asquith et al., 2009)을 참고하여 실행하였다. 동물 마취는 Enflurane로 실행한 후 오른쪽 발바닥 관절 내로 100 μ L의 Complete Freund's adjuvant (CFA) 4 mL를 주입하여 관절염을 유발시켰다. CFA는 incomplete Freund's adjuvant에 *Mycobacterium buty-*

ricum 16 mg을 용해시킨 후 생리식염수 4 mL와 혼합하여 만들었다.

각 동물군은 정상대조군, 대조군, 실험군(애기우산나물 추출물 경구 투여량 0.05 mg/kg, 애기우산나물 경구 투여량 0.2 mg/kg, 애기우산나물 경구 투여량 0.8 mg/kg)으로 각각 쥐 12마리로 구성하였다. 각 동물의 경구 투여량은 Yang et al. (2016)과 Jing et al. (2012) 연구를 참조하여 설정하였다. 통증에 대한 각 동물의 반응과 역치는 안정된 쥐를 대상으로 물질 투여 전 3일 동안 실험하여 평균값을 산출하였다. 그 후 6일 동안 애기우산나물 추출물 투여한 후 30분 후에 기계적 자극과 냉자극에 대한 통증행동평가를 10분 간격으로 실시하였다. 6일 후 통증행동평가 이후 마취 후 동물을 희생시켰으며 혈액과 발바닥 조직을 수집하였다. 수집된 혈액은 원심분리 후 혈청으로 조직과 함께 -70°C 냉장고에 보관하였다.

통증행동검사는 기계적 자극에 대한 검사, 냉자극에 대한 검사로 행하였으며 내용은 다음과 같다. 기계적 자극에 대한 통증회피반응은 Lambert (Lambert et al., 2009)의 방법을 이용하였다. 밑바닥이 철망인 통(10×10×20 cm)에 쥐를 넣고, 검사 전 한 시간 동안 동물을 안정시켰다. von Frey Hair (0.40, 0.70, 1.20, 2.00, 5.50, 8.50)을 이용하여 철망 사이로 up & down 방법으로 발바닥 자극 가한 후 50% 회피역치를 측정하였다.

냉자극에 대한 통증회피반응은 다른 자극 후 최소 2시간 이상의 안정시간을 가진 후, 99% 아세톤을 쥐 발바닥에 한 방울 묻힌 후 통증회피가 나타날 때까지의 잠복기를 측정하였다(Lee et al., 2022).

전염증성 사이토카인의 분석

동물 희생 후 전혈 원심분리를 한 혈청을 검체로 이용하였으며 검사 직전까지 -70°C 냉장고에 보관하였다. 혈액의 전염증성 사이토카인(TNF- α : 25, IL-1 β , IL-6)의 농도를 ELISA kit의 매뉴얼에 따라 실험을 시행하여 측정하였다.

통계 처리

본 실험 결과들은 평균(mean) \pm 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군 간 평균 차이는 Kruskal Wallis test로 유의성을 확인한 후 Mann Whiteny U-test를 이용하여 사후 검정하였다. $P < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS (statistical package for the social science) version 18.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

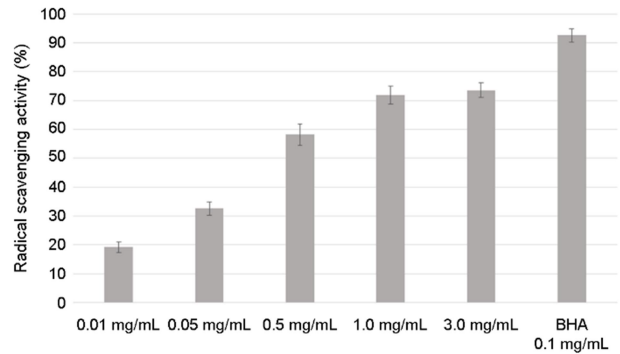


Fig. 1. The DPPH radical scavenging activity of SAM extract was measured. The scavenging ability of all extracts increased in a concentration-dependent manner. The data were expressed as the mean \pm SD (n=12).

결 과

DPPH free radical 소거 활성 결과

애기우산나물(SAM) 추출물에서 DPPH radical 소거능력을 측정하였다. 애기우산나물 추출물에서 radical 소거능은 추출물 농도의존적으로 증가하였으며, SAM 추출물 0.01 mg/mL에서 19.15 \pm 1.81%, 0.05 mg/mL에서 32.28 \pm 2.28%, 0.5 mg/mL에서 58.16 \pm 3.59%, 1.0 mg/mL에서 71.80 \pm 3.10%, 3.0 mg/mL에서 73.58 \pm 2.59%의 활성을 보였다. 양성대조군인 BHA에서는 92.52 \pm 2.35%의 활성을 보였다(Fig. 1).

Xanthine oxidase (XO) 저해활성 측정 결과

SAM 추출물을 0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, 및 3.0 mg/mL의 농도로 처리하고 XO의 저해활성을 측정하였다(Fig. 2). 3 mg/mL 농도 SAM 추출물에서의 저해율이 61.25 \pm 1.32%로 가장 높았으며, 양성대조군인 BHA (75.92 \pm 1.51%)와 유사한 수치를 보였다. Nitric oxide 소거능 역시 추출물 농도의존적으로 증가하는 경향이 있었다.

Reducing power 측정 결과

환원력은 각각의 처리농도에서 9.18 \pm 1.02% (0.01 mg/mL), 15.58 \pm 1.35% (0.05 mg/mL), 24.52 \pm 2.08% (0.5 mg/mL), 55.69 \pm 3.52% (1.0 mg/mL), 62.10 \pm 3.17% (3.0 mg/mL)이었으며, 양성대조군에서는 92.09 \pm 1.02%의 환원력을 보였다(Fig. 3).

통증행동검사 결과

CFA를 주입한 동물에서 관절염 유발 여부를 확인하기 위한 걷기평가, 육안평가, 및 통증평가를 실시하여 관절염이 유발된 개체만을 실험에 활용하였다(관절염 유발률 88%, 55개체 중 48개체) (data not shown). Table 1은 기계적인 자극에 대한 통증행동평가에 대한 결과이다. 관절염만 유발한 CFA군에서 6일 동안 유사한 경향의 Withdrawal threshold 값을 가졌으며, 다른 군들은 유의한 차이가 발생하였다. SAM 0.05 mg/kg군은 3일차부터 CFA군과 통계적으로 유의한 차이를 보였으며($P<0.05$), SAM 0.8 mg/kg군인 경우는 1일차부터 유의한 차이를 보이기 시작하였다($P<0.01$).

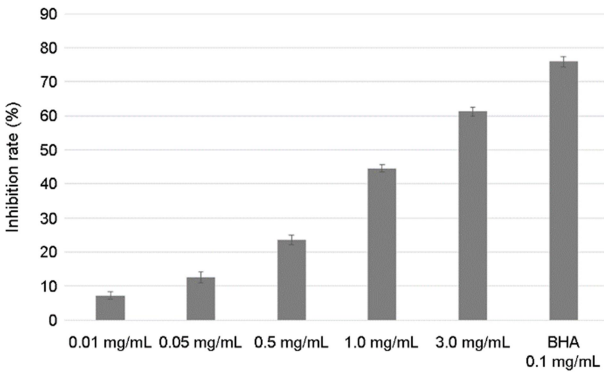


Fig. 2. SAM extracts were treated at concentrations of 0.01 mg/mL, 0.05 mg/mL, 0.5 mg/mL, 1.0 mg/mL, and 3.0 mg/mL, respectively, and the inhibitory activity of xanthine oxidase (XO) was measured. Nitric oxide (NO) scavenging ability tended to increase depending on the concentration of the extract. The data were expressed as the mean \pm SD (n=5).

Table 2는 냉자극에 대한 동물의 반응시간에 대한 결과이다. SAM 0.05 mg/kg군은 4일차부터 통계적으로 CFA군과 유의한 차이를 보였다($P<0.05$). SAM 0.2 mg/kg군과 SAM 0.8 mg/kg군은 CFA군과 비교하여 4일차와 2일차부터 유의한 차이를 보이기 시작하였다($P<0.01$).

전염증성 사이토카인 측정 결과

혈청의 IL-1 β , TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 를 ELISA 방법을 이용하여 측정하였다(Fig. 4). CFA군 IL-1 β , TNF- α , IL-6 측정 결과는 각각 121.38 ± 7.95 pg/mL, 206.71 ± 12.17 pg/mL, 81.52 ± 8.91 pg/mL이며, 정상대조군에 비해서 상당히 증가되어 있음을 알 수 있다. 혈청 IL-1 β 인 경우 SAM 0.05 mg/kg군, SAM 0.2 mg/kg군, 그리고 SAM 0.8 mg/kg군의 농도가 각각 71.58 ± 3.68 pg/mL, 41.12 ± 2.65 pg/mL, $23.89\pm$

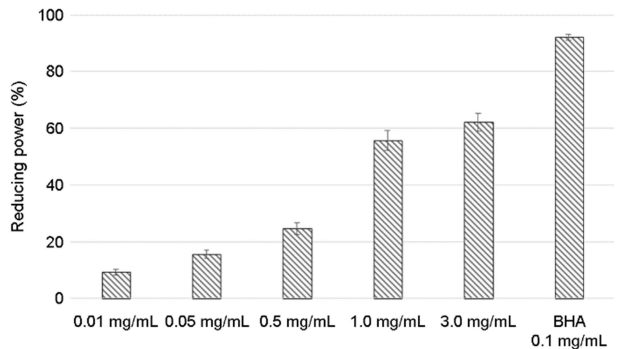


Fig. 3. The reducing power was $9.18\pm 1.02\%$, $15.58\pm 1.35\%$, $24.52\pm 2.08\%$, $55.69\pm 3.52\%$, and $62.10\pm 3.17\%$ at each treatment concentration. The value after treatment at a concentration of 3.0 mg/mL was most similar to the positive control group. The data were expressed as the mean \pm SD (n=5).

Table 1. Effects of SAM on mechanical allodynia in adjuvant-induced SD rats

Experimental Groups	Withdrawal threshold (g)						
	0 day	1 days	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
Control (n=12)	18.94 \pm 5.01	18.01 \pm 2.59	17.40 \pm 3.08	17.29 \pm 3.07	18.27 \pm 4.10	17.85 \pm 3.60	17.68 \pm 3.71
CFA (n=12)	7.71 \pm 1.20	7.58 \pm 0.81	7.29 \pm 0.77	7.55 \pm 0.81	7.01 \pm 0.72	6.30 \pm 0.89	6.07 \pm 0.91
SAM 0.05 mg/kg (n=12)	7.91 \pm 1.11	7.90 \pm 1.00	8.58 \pm 2.57	11.21 \pm 2.02*	11.87 \pm 0.99	12.50 \pm 1.20**	12.68 \pm 0.70**
SAM 0.2 mg/kg (n=12)	7.70 \pm 0.60	8.19 \pm 1.18	10.80 \pm 0.88*	11.90 \pm 1.95**	12.70 \pm 1.58**	13.09 \pm 1.51**	14.50 \pm 1.81**
SAM 0.8 mg/kg (n=12)	7.40 \pm 1.24	10.01 \pm 2.58*	13.45 \pm 1.62**	14.08 \pm 1.30**	15.10 \pm 1.55**	16.80 \pm 1.44**	17.61 \pm 0.97**

Abbreviations: SAM, *Syneilesis aconitifolia* Maxim.; CFA, Complete Freund's adjuvant group. Each point represents the mean \pm SEM. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ compared with the CFA group

Table 2. Effects of SAM on cold and heat allodynia in adjuvant-induced SD rats

Experimental Groups	Duration of withdrawal responses (sec)						
	0 day	1 days	2 days	3 days	4 days	5 days	6 days
Control (n=12)	80.51±4.70	82.10±4.80	80.58±4.11	82.10±3.03	84.10±5.05	80.56±4.08	82.09±5.01
CFA (n=12)	61.01±5.62	60.18±5.10	63.11±6.09	62.17±5.95	61.00±3.13	62.18±4.01	63.81±5.02
SAM 0.05 mg/kg (n=12)	62.10±3.08	65.07±5.10	65.19±5.55	66.04±5.90	72.18±4.20*	75.10±3.82*	74.01±2.98*
SAM 0.2 mg/kg (n=12)	60.77±5.61	64.10±3.70	64.98±3.51	65.81±2.77	73.00±3.25*	77.10±2.60*	78.05±3.01**
SAM 0.8 mg/kg (n=12)	63.52±5.11	66.10±5.09	71.22±3.03*	73.08±2.27*	77.19±2.08**	79.90±3.66**	81.08±4.11**

Abbreviations: SAM, *Syneilesis aconitifolia* Maxim.; CFA, Complete Freund's adjuvant group. Each point represents the mean ± SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with the CFA group

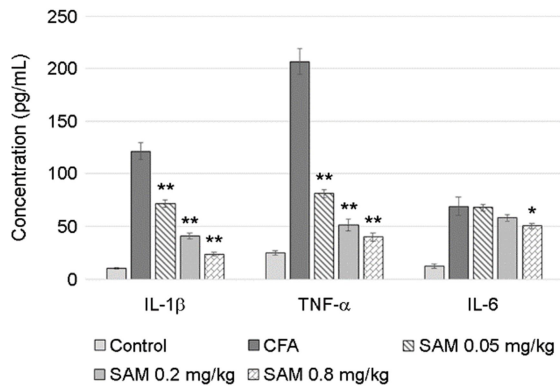


Fig. 4. Serum IL-1 β and TNF- α were decreased in a concentration-dependent manner by SAM extract. Pro-inflammatory cytokine in treat groups were significantly lower than those of the CFA group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the CFA group).

1.50 pg/mL이었으며, 농도의존적으로 줄어들었다. TNF- α 는 SAM 0.05 mg/kg군(81.14±4.01 pg/mL), SAM 0.2 mg/kg군(51.63±5.55 pg/mL), 그리고 SAM 0.8 mg/kg군(39.95±3.88 pg/mL) 농도이었으며, 사이토카인 역시 SAM 추출물 농도의존적으로 감소함을 알 수 있었다. IL-6 역시 농도의존적으로 감소하였으며, SAM 0.8 mg/kg군(50.51±2.58 pg/mL)에서만 통계적으로 유의한 차이를 보였다.

고 찰

본 연구는 민간에서의 다양한 활용에도 불구하고 연구가 부족한 편인 애기우산나물의 통증완화제 활용의 가능성을 확인하고자 실행하였으며, 실험 결과 관절염동물모델에서 애기우산나물 추출물의 경구 투여는 유해자극에

의한 염증반응을 저해하여 통증을 경감시킨다는 사실을 확인하였다.

애기우산나물의 성상을 살펴보고자 한 여러 연구 중 DPPH 실험은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질의 전자공여능을 측정하는데 많이 이용되고 있다. 천연물질의 전자공여능은 free radical을 제거하며 인체의 노화를 억제하는 작용을 한다고 알려져 있으며(Sekhar et al., 2023), 또한 free radical의 제거는 인체 내 산화 스트레스를 경감시켜 염증과 관련된 질환 치료에도 효과가 있다고 알려져 있다(Conner and Grisham, 1996). 본 연구에서 애기우산나물의 radical scavenger 제거능은 3.0 mg/mL 경구 투여군에서 양성대조군과 비슷한 결과를 보였으며 이는 전 연구(Krasovskaya et al., 1989)와 동일한 결과이다. Xanthine oxidase는 xanthine를 대사하여 uric acid, oxygen free radical를 형성하며, 생성된 oxygen free radical는 체내의 산화적 손상을 유발하며 암, 심혈관 질환, 및 노화 등의 원인이 된다(Muriel, 2009). 따라서 Xanthine oxidase를 저해하면 free radical 생성이 억제되어 항노화, 항염증, 및 항산화 등의 효과를 기대할 수 있다(Chambers et al., 1985, Burrage et al., 2023). 본 연구에서의 Xanthine oxidase 저해활성은 애기우산나물 추출물의 농도와 비례하여 증가하였으며, 이러한 결과를 토대로 항산화 작용에 의한 염증저해를 예상해 볼 수 있다. DPPH radical 소거능은 천연물질의 환원력과 밀접한 관련이 있으며(Bowen-Forbes et al., 2023), 애기우산나물 추출물은 0.8 mg/mL의 농도에서 높은 소거능을 가지고 있으며, 이는 애기우산나물 추출물은 높은 환원력을 가졌다고 볼 수 있는 증거이다.

CFA 유도성 관절염은 류마티스 관절염을 평가하기 위하여 통상 활용하는 모델이지만, 무릎 대신 발바닥 관절

에 유발물질을 주입하도록 수정하여 염증성 통증을 유발하였다. 통상적으로 유발된 통증의 치료효과를 관찰하기 위하여 통각과민(hyperalgesia)과 이질통(allodynia)을 확인하는 방법이 자주 이용되고 있다(Lu et al., 2023). 본 연구에서는 자극에 대한 회피반응을 측정하였으며, filament에 의해 발생한 이질통은 정상적으로는 통증을 유발할 수 없는 자극에서 통증이 유발되는 과민상태를 의미한다(Bonin et al., 2014). 이질통은 열 및 냉자극에 의해서도 유발되기 때문에 아세톤을 활용한 냉각자극을 가하여 회피반응을 측정하였다. Filament을 이용한 기계적 이질통 검사 결과는 CFA 유발 전에는 모든 실험군에서 von Frey filament에 반응하여 높은 역치값을 가졌으나(data not shown), CFA 유발 후에는 filament의 통증반응 역치값이 유발 전과 비교하여 급격히 낮아짐을 볼 수 있었다. 이러한 이유는 염증반응에 의해 발바닥의 통증 민감도가 초래되었기 때문이라고 사료된다. 애기우산나물 추출물 경구 투여 후 각 군에서 발바닥의 통증반응 역치값이 증가하는 것으로 보아 통증 과민화상태가 호전되고 있음을 알 수 있었다. 특히 6일째에는 거의 모든 농도의 군에서 통증반응 역치 값이 통계적으로 유의하게 증가하였다($P < 0.01$) (Table 1). 냉각자극에 의한 회피반응의 결과를 보면 (Table 2), 전반적으로 기계적 이질통에 의한 통증완화 효과에 비해서는 효과가 덜함을 알 수 있었다. 하지만 애기우산나물 0.8 mg/kg 투여군에서는 상당한 통증경감 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

유해한 자극이 가해진 결과 세포가 파괴되고 손상된 조직을 회복시키기 위한 염증반응이 발생하는데, 염증반응의 부산물로 염증물질들이 만들어지는데 이들은 유해감수기를 활성화시키고 통증을 유발하는 면역세포들에 작용하여 다른 염증매개물질들을 유리하게 된다(Schaible and Richter, 2004). 이중 bradykinin와 사이토카인의 상호작용이 유해감수기의 활성을 증가시킨다. 염증매개물질 중 IL-1 β 는 bradykinin 수용체를 발현을 증가시키고 bradykinin 활성 대사산물을 증가시키며 이 대사산물은 다시 IL-1 β 와 TNF- α 의 mRNA의 발현을 증가시킨다(Ferreira et al., 2007; Schaible and Richter, 2004). 본 연구는 전염증성 사이토카인(IL-1 β , TNF- α 및 IL-6)의 농도 변화를 추적하여 염증반응에 있어서 애기우산나물의 염증완화 효과를 설명하고자 하였다(Fig. 4). 실험 결과 IL-1 β 와 TNF- α 두 개의 사이토카인이 애기우산나물 추출물 경구 투여군에서 대조군과 비교하여 통계적으로 유의하게 저하되어 있음을 알 수 있으며($P < 0.01$), 위 결과들은 염증반응 감소와 통증반응

경감과의 연관성에 대하여 설명하여 준다.

본 연구는 애기우산나물의 통증경감에 설명하고자 하였으며, 그 결과 애기우산나물의 항산화와 관련된 항염증 효과를 기반으로 통증경감 효과가 있다는 사실을 확인할 수 있었다. 최근에는 항염증 및 진통 등의 효과가 있는 비스테로이드성 항염증제를 대신하여 천연물질을 부작용 없이 환자에게 적용할 수 있다는 연구가 있으며(Simon and Evan Prince, 2017), 애기우산나물도 그러한 역할을 할 수 있을 것이라 향후 기대한다. 최근 연구들이 만성 통증과 우울증의 관련성에 근거하여 염증 치료제의 우울증 치료효과에 대한 연구가 활발히 진행되고 있음을 고려해 볼 때, 차후 연구로는 애기우산나물 추출물의 만성 염증과 우울증 완화효과에 대한 검증이 필요하다고 사료된다.

ACKNOWLEDGEMENT

This paper was supported by Wonkwang Health Science University in 2022.

CONFLICT OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Ahlgren SC, Wang JF, Levine JD. C-fiber mechanical stimulus-response functions are different in inflammatory versus neuropathic hyperalgesia in the rat. *Neuroscience*. 1996. 76: 285-290.
- Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, Liew FY. Animal models of rheumatoid arthritis. *European Journal of Immunology*. 2009. 39. 2040-2044.
- Bonin RP, Bories C, De Koninck Y. A simplified up-down method (SUDO) for measuring mechanical nociception in rodents using von Frey filaments. *Molecular Pain*. 2014. 10: 1744-8069.
- Bowen-Forbes C, Armstrong E, Moses A, Fahlman R, Koosha H, Yager JY. Broccoli, Kale, and Radish Sprouts: Key Phytochemical Constituents and DPPH Free Radical Scavenging Activity. *Molecules*. 2023. 28: 4266.
- Burrage EN, Coblenz T, Prabhu SS, Childers R, Bryner RW, Lewis SE, Chantler PD. Xanthine oxidase mediates chronic stress-induced cerebrovascular dysfunction and cognitive impairment. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*.

2023. 43: 905-920.
- Chambers DE, Parks DA, Patterson G, Roy R, McCord JM, Yoshida S, Downey JM. Xanthine oxidase as a source of free radical damage in myocardial ischemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 1985. 1: 145-152.
- Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition*. 1996. 12: 274-277.
- Dickenson AH, Suzuki R. Opioids in neuropathic pain: clues from animal studies. *European Journal of Pain*. 2005. 9: 113-116.
- Djoughri L, Koutsikou S, Fang X, McMullan S, Lawson SN. Spontaneous pain, both neuropathic and inflammatory, is related to frequency of spontaneous firing in intact c-fiber nociceptors. *Journal of Neuroscience*. 2006. 26: 1281-1292.
- Ferreira IC, Baptista P, Vilas-Boas M, Barros LF. Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. 2007. 100: 1511-1516.
- Hunt SP, Mantyh PW. The molecular dynamics of pain control. *Nature Reviews Neuroscience*. 2001. 2: 83-91.
- Jing B, Ma Z, Feng J, Liang H, Li C, Zhang X. Evaluation of the antiviral activity of extracts from plants grown in the Qinling region of China against infection by Tobacco mosaic virus (TMV). *Journal of Phytopathology*. 2012. 160: 181-186.
- Krasovskaya NP, Kulesh NI, Denisenko VA. Natural antioxidants. Furanoterpenes from *Cacalia* roots. *Chemistry of Natural Compounds*. 1989. 25: 545-548.
- Lambert GA, Mallos G, Zagami AS. Von Frey's hairs—a review of their technology and use—a novel automated von Frey device for improved testing for hyperalgesia. *Journal of Neuroscience Methods*. 2009. 177: 420-426.
- Lee GH, Yoon HG, Choi GE, Hyun KY. Analgesic Effect of *Poria cocos* Extract on a Rat Model of Adjuvant-induced Arthritis. *Biomedical Science Letters*. 2022. 28: 137-144.
- Lee YS, Ahn DS, Joo EY, Kim NW. Antioxidative activities of *Syneilesis palmata* extracts. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2009. 38: 1471-1477.
- Lee YS, Seo SJ, Kim NW. Analysis of the general components of *Syneilesis palmata* Maxim. *Korean Journal of Food Preservation*. 2009. 16: 412-418.
- Lu Y, Liu M, Guo X, Wang P, Zeng F, Wang H, Tao T. miR-26a-5p alleviates CFA-induced chronic inflammatory hyperalgesia through Wnt5a/CaMKII/NFAT signaling in mice. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2023. 29: 1254-1271.
- Mogil JS, Davis KD, Derbyshire SW. The necessity of animal models in pain research. *PAIN®*. 2010. 151: 12-17.
- Molyneux PJ. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2004. 26: 211-219.
- Muriel P. Role of free radicals in liver diseases. *Hepatology International*. 2009. 3: 526-536.
- Newaz MA, Adeb NN. Detection of xanthine oxidase in human plasma. *Medical Journal of Malaysia*. 1998. 53: 70-75.
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*. 1986. 44: 307-315.
- Pardutz A, Schoenen JP. NSAIDs in the acute treatment of migraine: A review of clinical and experimental data. *Pharmaceuticals*. 2010. 3: 1966-1987.
- Schaible HG, Richter F. Pathophysiology of pain. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2004. 389: 237-243.
- Sekhar MG, Shanmugam KR, Prasad KS. Free Radical Scavenging Activity and Phytochemical Screening of *Trigonella foenum-graecum*: A Study with Reference to Drug Discovery. *Journal of Plant Science Research*. 2023. 39.
- Simon JP, Evan Prince ST. Natural remedies for non-steroidal anti-inflammatory drug-induced toxicity. *Journal of Applied Toxicology*. 2017. 37: 71-83.
- Staud R, Bovee CE, Robinson ME, Price DD. Cutaneous c-fiber pain abnormalities of fibromyalgia patients are specifically related to temporal summation. *Pain*. 2008. 139: 315-323.
- Woolf CJ. Central sensitization: Implications for the diagnosis and treatment of pain. *Pain*. 2011. 152: S2-S15.
- Yang F, Qiao L, Huang DM, Su YF, Wu ZH. Three new eremophilane glucosides from *Syneilesis aconitifolia*. *Phytochemistry Letters*. 2016. 15: 21-25.

<https://doi.org/10.15616/BSL.2023.29.3.152>

Cite this article as: Lee GH. Analgesic Effect of *Syneilesis aconitifolia* Maxim. Extract on Animal Pain Model. *Biomedical Science Letters*. 2023. 29: 152-158.