

쥐에서 非스테로이드性 抗炎症劑의 投與後 抗炎效果와 血清 및 組織內 구리含量變化에 관한 研究

許仁會·任哲彬

中央大學校 藥學大學

(Received February 25, 1982)

In Hoi Huh and Churl Bin Yim

College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul 150, Korea

Studies on the Antiinflammatory Effects and the Change of Copper Content after Administration of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs in Rats

Abstract: This paper presents anti-inflammatory effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and their copper complexes, and the change of content of copper in serum, liver, brain and edema foot induced by 1% carrageenan in rats, and also investigation of stomach hemorrhage.

The results were as follows. 1. The content of copper decreased in liver and brain, however, the concentration of copper significantly increased in serum and edema site after carrageenan injection in rats. 2. The content of copper in serum and edema site was decreased after administration of anti-inflammatory drugs. 3. Edema inhibition rate of aspirin was, higher than that of copper (II) aspirinate, but edema inhibition rate of copper complex of naproxen was markedly higher than that of naproxen. 4. Hemorrhage of stomach of copper salicylate was higher than that of sodium salicylate, but hemorrhage of stomach of sodium naproxen was higher than that of copper naproxen.

구리는 인간과 동물체에 있어서 必須元素이고 정상적인 代謝일때는 恒常性이 유지되며^{1,2)} 인간은 1日 2.5mg적은 섭취해야 하며 體重 70kg의 성인인 체내에 80~120mg의 구리를 함유하고 있는 것으로 추산된다³⁾.

특히 혈청구리의 濃度는 다른금속에 비해서 一定한데⁴⁻⁶⁾(平均 115 μ g/100ml) 많은 연구들은 感染性 病患, 류마치스 관절염, 癌 등을 포함한 대부분의 疾病의 경우 혈청철, 아연, 은등의 濃度는 감소하는 반면에 혈청구리의 濃度는 정상일 때 보다 훨씬 증가한다고 報告하고 있다.^{3,7,8)} 또 기염제에 의해서 혈장구리와 ceruloplasmin의 濃度는 유의성있게 변하는데 Gubler等⁹⁾은 turpentine, Staphylococcus aureus, typhoid vaccine, milk의 注射후 혈청구리와 ceruloplasmin의 濃度의 증가를 관찰했다. Meyer等^{1,4)}도 turpentine 注射 후 혈청구리와 ceruloplasmin의 증가는 內因性 體液性 物質(endogenous humoral agent)에 의해 일어난 것으로 추정하고 있다.

한편, 구리는 炎症에 관계되는 生化學的인 pathway에 관여하는데 예를들어 arachidonic acid가 prostagrandin F₂ α 로 변화하는 것을 가속화한다는 報告도 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 또 비스테로이드성 抗炎症藥의 가장 빈번한 副作用은 위장관에 관계되는 胃炎, 胃腸管 出血, 궤양등을 유발시키는 것인데¹³⁾ Rainford 등¹⁴⁾은 copper(II) aspirinate와 copper salicylate의 急性浮腫에 대한 효과와 위점

막 손상면에서의 영향에 관하여 보고한바 있으며 최근 Sorenson¹⁵⁻¹⁷⁾은 비스테로이드성 抗炎症藥의 copper complex가 parent 抗炎症藥보다 염증을 해소시키는 면에서 상당한 진전이 있었으며 더 불어서 항게양作用도 있다고 시사했다. 특히 可溶性 copper(II) aspirinate는 관절염이나 다른 류마치스질환에 臨床的인 應用이 고려된다고 보고했다.

그런데 단순한 copper鹽(basic carbonate, acetate, chloride)도 쥐에서 抗炎症作用을 보여준다.
17-19)

한편 Gerber²⁰⁾는 류마치스 관절염환자는 正常人에 비해서 尿에서 구리배위자의 反應性(copper lignand reactivity)이 높았다고 보고했으며 stress下에서 혈액내에 copper의 농도가 높은 것은 細胞로 부터의 근본적인 copper의 유리를 말하며 aspirin 등 抗炎症藥은 혈액으로 유리된 copper와 chelate를 形成하여 病巢를 치유하고 구리는 다시 그 細胞에 되돌리지는것 같다는 報告도 있다.²¹⁾

Underwood²²⁾도 류마치스 관절염 治療藥의 抗炎症作用은 혈액에서 copper chelator와 complex를 形成함에 있다고 보고했으며 Sorenson¹⁵⁾은 in vivo에서도 copper chelator는 形成될 수 있다고 진제하면서 구리나 관절염 치료약이 抗炎症作用이나 治療效果를 나타나게 하는데 copper chelator가 중간매개체 役割를 한다고 주장했다.

이와 더불어 구리의 炎症 및 관절염을 일으킨 부위에서의 作用은 Richardson²³⁾은 salicylate와 copper complex는 관절염을 치료하는 동안 활액의 degeneration으로 부터 보호하고 生物學的으로 產出된 OH⁻基에 의한 백혈구의 조기죽음을 막아준다고 보고했으며 McCord²⁴⁾는 적혈구내에서 구리의 대부분은 superoxide dimutase로 存在하는데 이 酵素는 cytochrome C oxidase을 抑制하는 superoxide radical에 의한 해로운 作用으로 부터 細胞을 보호하는 役割을 하며 superoxide dimutase와 catalase는 實驗管內에서 활액의 퇴화로 부터 막아준다고 주장했다. 또 Fridovich²⁵⁾도 炎症을 일으킨 부위에 注射한 Superoxide dimutase는 食세포에 의해 分泌된 superoxide anion에 의한 損傷을 감소시켰다고 報告했다.

그러나 지금까지의 研究로는 臟器와 炎症組織과 血清中의 구리농도 변화에 대한 상관관계와 항류마치스 관절염 치료약과 그의 구리複合體로 투여시 抗炎症效果面에서는 의문시 되고 있다.

따라서 著者는 쥐에서 비스테로이드성 抗炎症藥인 aspirin, sodium salicylate, sodium naproxen, penicillamine과 그의 구리複合體를 合成하여 경구 투여시 carrageenan으로 일으킨 부종에 대한 浮腫抑制成績과 정상적인 쥐의 경우와 carrageenan으로 부종을 일으킨때, 그리고 각 藥物의 투여시 肝, 腦, 炎症부위인 발, 血清에서의 구리濃度變化에 관한 分析結果 및 胃에 미치는 영향에 관한 관찰을 報告하고자 한다.

實驗 方法

實驗材料—구리표준액은 日本關東化學株式會社의 원자흡광분석용 구리표준액 100ppm 溶液을 희석해서 표준곡선의 작성에 사용했다.

질산은 유해금속측정용 和光純工業株式會社제를 사용하였고 carrageenan은 seakem 202를, aspirin은 bayer 會社제이며 copper(II) aspirinate는 L. Manojlovic-Muir²⁶⁾의 합성방법에 따라 만들었다.

Copper salicylate는 Hanicmichal²⁷⁾의 合成方法에 따라 제조하였다. Sodium naproxen은 중군 당주식회사에서 제공받았고 Copper naproxen은 Boyle等²⁸⁾의 방법에 따라 제조하였다.

實驗動物—同一條件에서 사육한 體重 86~131(平均體重 112g)의 Sprague-Dawley系 숫컷 흰쥐

를 사용했으며 본 실험기간에는 시판 고형사료 및 음료수 공급에는 制限을 두지 않았다.

實驗方法—1) 抗炎症의 實驗(Carrageenan 浮腫法)

Winter等²⁹⁾의 방법에 준하였다. 즉, 1群에 6마리씩 흰쥐를 사용하여 24시간 絶食후 被檢藥物을 경구투여하고 1시간후에 오른쪽 족척피하에 1% carrageenan 현탁액을 0.1ml/rat을 注射하였다. 그후 3시간에 ether로 금사시킨후 복사뼈(malleolus)을 절단하여 그 무게 및 용적을 測定하였다. 그리고 다음식에서 따라 浮腫率과 浮腫抑制率을 구하였다.

$$E(\%) = \frac{R_{Vt} - L_{Vc}}{L_{Vc}} \times 100 \qquad I(\%) = \frac{E_c - E_t}{E_c} \times 100$$

E: 浮腫率
L_{Vc}: 왼쪽발의 容積
R_{Vt}: 오른쪽발의 容積
E: 浮腫抑制率
E_c: 대조군의 오른쪽발의 浮腫率
E_t: 藥物投與群의 오른쪽발의 浮腫率

2) 血清 및 組織에서의 구리농도변화 測定實驗

1군을 6마리의 흰쥐를 사용하여 24시간 절식시킨후 被檢藥物을 경구로 투여하고 1시간후에 오른쪽 발바닥에 피하로 1% carrageenan 현탁액을 0.1ml/rat씩 注射하였다. 그후 3시간에 ether로 마취시킨뒤 心臟으로 부터 혈액을 채취하고, 肝, 腦組織과 복사뼈를 절단하여 양말을 취하였다. 채취된 혈액은 3,000r.p.m.으로 30분간 遠心分離하여 혈청만 취하였으며 이 血清은 실험관에 0.1ml을 옮겨넣고 0.5N-HNO₃를 6ml넣어 60배 희석액으로 만들었다. 또 肝, 腦 및 발조직은 혈액을 0.9% 生理食鹽水에 씻어서 제거한 후 각각의 무게를 측정하고 유해금속 분석용 C-NHO₃ 5ml과 함께 tall beaker에 넣고 hot-plate 上에서 가열하여 완전히 분해시킨 후 눈금이 있는 실험관에 옮겨넣어 10ml 標線까지 0.5N-NHO₃로 채웠다.

Table I -Anti-inflammatory activity of N.S.A.I.D on carrageenan edema of the rat hind paw.

Drug	Dose	No. of animal	Edema(%)	Inhibition of edema (%)
Carrageenan control	0.1ml/rat	6	87.0±9.70	—
Aspirin	300mg/kg	6	27.4±4.52**	68.7±4.26
Cu(Aspirin) ₂	300	6	40.0±6.71**	54.0±7.73
Na-Salicylate	300	6	60.8±7.38	30.2±8.53
Cu(Salicylate) ₂	300	6	58.7±6.14*	32.5±7.07
Na-Naproxen	200	6	48.8±8.57*	43.8±9.88
Cu-Naproxen	200	6	18.2±4.73**	79.3±5.40
Penicillamine	300	6	104.0±9.15	-19.5±10.53

Drugs were orally administered 1 hour before the injection of 1% carrageenan. All values represent mean ±S.E. of six rat.

Statistically significant *p<0.05 **p<0.01.

이렇게 처리된 sample中에서 복사뼈를 잘라 취한 말은 10배로, 肝, 腦組織은 20배 희석시켰으며 위의 희석배수로 測定이 不可能한 sample은 더 희석시키거나 농축시켰다.

처리된 희석액은 atomic absorption flame emission spectrometer(Jarrell-Ash, Division of fisher scientific Co)을 사용해서 파장 3247로 구리의 濃度를 定量하였다. 단, flameless burner를 사용하였다.

3) 위궤양 形成作用

Corne等³⁰⁾의 方法에 準하여 抗炎症 實驗에 사용한 흰쥐의 胃를 취하여 대만부를 따라 절개해 서 10배로 확대하여 궤양, 出血有無를 관찰하였다. 위손상 程度에 따라 Green等³¹⁾의 方法처럼 0~5의 점수제로 계산하였다.

實驗 結果 및 考察

抗炎症 作用(Carrageenan 浮腫抑制作用)—흰쥐의 後肢 발바닥은 1% carrageenan 懸탁액의 局所注射로 부종을 일으켰으며 주사후 3시간에 87%의 浮腫率를 나타내었다. 이런 급성부종에 대하여 Table I.과 같이 aspirin, copper(II) aspirinate, copper salicylate, sodium naproxen, copper naproxen은 유의성 있는 부종율의 減小를 나타내었다.

또, copper naproxen은 부종억제율이 79.3으로 가장 많이 부종을 억제시켰는데 sodium naproxen의 43.8보다 약 2배나 강력한 것이며 aspirin의 68.7보다도 carrageenan으로 일으킨 부종을 많이 억제시켰다.

Rainfor等¹⁴⁾은 copper aspirin이 經口投與時 carrageenan 급성부종에 대하여 抑制하는 作用이 aspirin보다 강력하지 못하며 copper salicylate도 經口로 投與時 copper aspirin보다 강력하지 못하고 salicylate와 비슷한 정도의 浮腫抑制作用이 있었다고 주장하였다. 또 copper aspirin은 經口나 皮下注射로 투여했을때나 carrageenan浮腫을 같은 정도로 억제시켰으나 copper salicylate는 經口보다는 皮下注射가 월등한 浮腫抑制作用을 나타냈다고 보고한 바 있으나 본 實驗에서도 copper aspirin은 aspirin보다 carrageenan浮腫을 억제하지 못했으나, sodium salicylate와 copper salicylate 보다는 강력한 效果를 나타내었다. 또 sodium salicylate와 copper salicylate는 비슷하게 부종을 억제시켰다.

한편, Milanino¹⁰⁾는 쥐에서 Cu결핍사료를 주었을때가 Cu공급사료를 주었을 경우보다 carrageenan으로 浮腫을 일으켰을 때 더 많은 팽윤을 일으켰으며 그후 Denko等³²⁾도 같은 실험결과를 報告하면서 血液內 90%의 Cu가 함유되어 있는 ceruloplasmin을 M.S.U. crystal 懸濁액으로 주사해 줌으로써 부종이 감소되었다고 한바 있으며 외부에서의 단순한 copper만의 공급도 抗炎症 效果가 인정되고 있다.

또 본실험에서는 用量面에서 copper complex로 投與할 때도 parent의 抗炎症藥과 同一量으로 經口투여했으므로 parent 抗炎症藥보다도 그의 구리複合體가 더 강력하게 carrageenan 浮腫을 抑制시키는 것으로 사료된다. 반면에 류마치스 관절염의 進行過程을 억제시키므로 류마치스 관절 염치료약으로 알려진 penicillamine³³⁾은 단 1회 用量으로는 전혀 浮腫을 억제시키지 못하였다.

血清 및 組織에서의 구리含量變化測定—Conforti(1980)等³⁴⁾은 쥐에서 carrageenan으로 浮腫을 일으킨 후 時間에 따른 혈청구리 및 ceruloplasmin의 농도변화를 測定했는데 carrageenan 皮下注射후 3시간에서는 정상인 쥐의 경우와 비슷했으나 22시간후에 最高의 濃度를 나타내었다고 보고 했다. 그러나 본 實驗은 carrageenan으로 부종을 유발시킨뒤 3시간에서만 수행했는데 이때의 혈 청 및 조직에서의 구리濃度變化는 Table II로 나타내었다.

즉 carrageenan으로 부종을 일으킨 쥐는 正常의 쥐에서 보다 copper의 농도가 복사뻘을 잘라 취한 염증을 일으킨 발과 血清中에서 유의성있게 증가한 반면 肝 및 腦組織에서는 감소되었는데 특히 肝에서는 더욱 심한 감소를 보여 주었다. 이런 結果는 glycoprotein이 염증에 대하여 防禦 因子로 이런 급성기의 단백질(=ceruloplasmin)은 肝에서 產生되어 상처조직과 반응한다고 주장

한 Denko³²⁾의 報告을再確認해 준 것으로 사료된다. 또 각 藥物投與로 혈청 및 발에서는 구리의 濃도가 감소하는 반면 肝, 腦組織에서는 유의성있는 증가를 나타내었고 염증부위인 발에서는 浮腫이 억제되면서 copper가 유의성있게 감소되는 것을 볼 수 있었다. 또한 carrageenan으로 皮下에 注射한 오른쪽발과 注射하지 않은 왼쪽발에서 구리의 濃度變化는 같이 일어나고 있었다.

한편 Niedermeier等³⁵⁾이 류마치스 관절염환자의 synovial fluid와 blood serum에서 구리의 농도가 正常人에게서보다 높았다고한 報告와 일치하며 이와같은 혈청구리의 濃도가 상승을 하는 結果를 응용하여 류마치스 관절염환자의 診斷까지 可能하다고 Durrigl等³⁶⁾은 提示했다.

또 Evans¹⁾報告와 동일하게 체내의 구리分布는 血清, 肝, 腦, 뼈, 근육順으로 높게 함유되어 있었으며 組織內에서보다 血清中에서 구리의 농도가 더 높음을 Meyer等⁴⁾의 報告와 일치하는 것이다.

그런데 penicillamine 經口投與時는 혈청 및 간에서 구리의 농도가 正常쥐와 carrageenan 부종을 일으킨 경우에서보다 낮았으며 血清中에서는 carrageenan 浮腫을 일으킨 群과 비교하여 유의성있는 減小를 볼 수 있었다. 또 뇌에서는 carrageenan 投與時와 비슷했고 발에서는 正常의 쥐와 비슷했으나 보편적으로 penicillamine 經口投與時는 구리의 濃도가 낮았다.

한편 류마치스 관절염환자의 경우 penicillamine을 복용함과 동시에 혈청구리의 濃도가 감소되는데 이는 penicillamine이 구리와 chelate를 形成하는 特性때문이라는 報告도 있다. 또 penicillamine은 sulphhydryl group을 갖는 아미노산으로서 구리의 결핍증상으로 생기는 Wilson's disease의 治療劑로도 사용되었으며 이는 copper sequester 役割을 하기 때문이라는 報告도 있는데^{37,38)} 이는 본 實驗結果에 대한 理論的인 뒷받침을 해주고 있다.

胃潰瘍 形成作用--24시간 絶食시킨 흰쥐에서 被檢藥物 投與후 3시간에서 胃궤양 및 출혈반 形成有無을 관찰했다. 대상약물 모두가 궤양을 야기시키지는 않았는데 연속투여가 아닌 단 1회의 經口投與를 실시한 것이 原因인것 같다.

實驗結果는 손상程度에 따라 Green等³¹⁾과 같이 점수제로 했는데 Table III에서와 같다.

Table II -Copper contents in blood serum, brain, liver and foot of rat.

Drugs	Dose	No. of animal	Blood serum	Liver	Brain	Foot	
						Right	Left
Control	—	6	3.13±0.39	1.78±0.13	0.85±0.03	0.50±0.05	0.53±0.03
Carrageenan	0.1ml/rat	6	4.89±0.39 ^{b)}	0.90±0.06 ^{a)}	0.55±0.02 ^{b)}	1.15±0.03 ^{b)}	1.28±0.01 ^{b)}
Aspirin	300mg/kg	6	2.34±0.16 ^{d)}	1.32±0.17 ^{a,c)}	0.90±0.18 ^{c)}	0.47±0.03 ^{d)}	0.50±0.05 ^{d)}
Cu(Aspirin) ₂	300	6	4.61±0.94	1.87±0.15 ^{d)}	1.14±0.24 ^{c)}	0.57±0.04 ^{d)}	0.66±0.04 ^{d)}
Na-Salicylate	300	6	2.78±0.16 ^{d)}	1.17±0.32	1.93±0.32 ^{c)}	0.42±0.05 ^{d)}	0.44±0.06 ^{d)}
Cu(Salicylate) ₂	300	6	6.88±2.42	1.27±0.19	0.38±0.04 ^{b,d)}	1.16±0.21 ^{a)}	1.07±0.19 ^{a)}
Na-Naproxen	200	6	3.28±0.35	1.52±0.15 ^{b)}	1.25±0.14 ^{a,d)}	3.49±0.06 ^{d)}	0.47±0.06 ^{d)}
Cu-Naproxen	200	6	0.28±0.37 ^{c)}	2.43±0.54 ^{c)}	1.08±0.30 ^{a,d)}	0.48±0.04 ^{d)}	0.46±0.05 ^{d)}
Penicillamine	300	6	2.46±0.29 ^{d)}	0.70±0.13 ^{b,c)}	0.66±0.11	0.55±0.05 ^{a,d)}	0.41±0.03 ^{d)}

Drugs were orally administered 1 hour before the injection of 1% carrageenan. All values represent mean±S.E of six rats.

Significantly different content from control group a) p<0.05 b) p<0.01

Significantly different content from carrageenan c) p<0.5 d) p<0.01

Copper salicylate와 copper aspirin은 parent salicylate나 aspirin보다 더 많은 궤양을 일으켰으며 胃出血面에서 naproxen이 가장 심했으나 그의 구리複合體인 copper naproxen으로 經口投與할때 naproxen만 투여시보다 훨씬 궤양형성작용이 감소되었다.

그러나 Boyle等²⁸⁾은 aspirin, clopirac, niplumic acid는 그의 구리複合體로 투여시 胃損傷이 줄어들었으나 indomethacin, ketoprofen, naproxen은 그의 copper complex로 경구투여 했을때나 parent antiinflammatory drug을 투여했을때나 胃損傷面에서 큰 차이는 없었다고 報告했으며 Sorenson¹⁷⁾도 copper aspirin이 aspirin보다 항 궤양작용이 강했다고 주장한 바 있다.

Table III-The effect of ulcerogenic procedures on gastric mucus.

Drugs	Dose	No. of animal	Score ^{a)}
Aspirin	300mg/kg	6	1.72±0.42
Cu(Aspirin) ₂	300	6	2.83±0.48
Na-Salicylate	300	6	0.67±0.21
Cu(Salicylate) ₂	300	6	1.33±0.21
Na-Naproxen	200	6	3.83±0.30
Cu-Naproxen	200	6	1.67±0.33
Penicillamine	300	6	0.33±0.21

After 48 hours fast, 1% carrageenan 0.1ml/rat. paw, S.C. Drugs were orally administered 1 hour before the injection of 1% carrageenan

a) Damage assessed on a 0-5 scoring system.

When viewed under a magnifier at×10 magnification.

結 論

쥐에서 非 steroid性 抗炎症藥과 그의 구리複合體를 경구투여한후 carrageenan으로 일으킨 부종에 대한 抑制效果 및 이배의 組織 및 血清中에서의 구리농도변화 및 위궤양 형성유무를 관찰했다.

1) 구리의 濃度는 염증이 생기면 혈청 및 염증부위에서는 유의성 있는 증가를 나타내었다. 그러나 肝, 腦組織에서는 유의성있는 감소를 관찰할 수 있었으며 특히 肝에서의 현저한 減小는 病理, 學的으로 意義가 있다. 또 이런상태는 약물을 투여하면 혈청 및 염증조직에서는 구리의 농도가 감소하는 반면에 肝 및 腦組織에서는 증가를 나타내었는데 正常的인 쥐의 구리농도에 근사하게 회복되어가는 것으로 사료된다.

2) Carrageenan으로 일으킨 浮腫에 대하여 naproxen은 그의 copper complex로 투여해줌으로써 유의성있는 抑制를 시켰으며 aspirin은 copper complex로 투여해줌으로써 浮腫을 덜 억제시켰으며 salicylate와 그의 구리複合體는 비슷한 效果를 나타내었다. 3) 胃궤양 形成作用은 naproxen이 가장 심하였는데 copper naproxen으로 투여하므로써 현저한 胃粘膜 出血을 감소시키는 것으로 사료되며 salicylate나 aspirin보다 그의 copper complex가 더 많은 胃粘膜의 손상을 일으키는 것으로 사료된다.

文 獻

1. G.W. Evans, *Physiol. Rev.* **53**, 535 (1973).
2. H. Scheinberg, *Fed. Proc., Fed. Am. Soc. Exp. Biol.*, **20**, 179 (1961).
3. R.E. Burch, H.K.J. Hahn, and J.F. Sullivan, *Clin. Chem.* **21**, 501 (1975).
4. B.J. Meyer, A.C. Meyer, and M.K. Horwitt, *Am. J. Physiol.* **194**, 581 (1958).
5. A.L. Neilsen, *Acta and Scandinav* **118**, 87 (1944).
6. M.Z. Lattey, C.J. Gubler, G.E. Cartwright and M.M. Wintrobe, *J. Clin. Invest.* **32**, 322 (1953).
7. R.S. Pekarek, G.A. Burghen, P.J. Bartelloni, F.M. Calia, K.A. Bostian, and W.R. Biesel, *Amer. J. Med. Sci.* **258**, 14 (1969).
8. P.R. Scudder, D.A. Timini, W. McMurray, A.G. White, B.C. Zoob, and T.L. Dormanay, *Annals of the Rheumatic Disease* **37**, 67 (1978).
9. C.J. Gubler, M.E. Lahey, G.E. Cartwright and M.M. Wintrose *Am. J. Physiol.* **171**, 652 (1952).
10. R. Milanino, S. Mazzoli, E. Passarella and G.P. Vclo, *Agents and Actions* **8**, 618 (1978).
11. R.E. Lee and W.E.M. Lands, *Biochem. Biophys. Acta* **260**, 203 (1972).
12. I.S. Maddox, *Biochem. Biophys. Acta* **306**, 74 (1973)
13. M. Osnes, S. Larsen, W. Eidsaunet, and E. Thom, *Clin. Pharmacol. Ther.* **26**, 399 (1979).
14. C.D. Rainford, M.W. Whitehouse, *J. Pharm. Pharmac.* **28**, 83 (1976).
15. J.R.J. Sorenson, *J. of Med. Chem.* **19**, 135 (1976).
16. J.R.J. Sorenson, *Inflammation* (N.Y.) **1**, 317 (1976).
17. J.R.J. Sorenson, *Trace. Subst. Environ. Health.* **8**, 305 (1974).
18. M.W. Whitehouse, L. Field, C.W. Denko. & R.R. Ryall, *Scand. J. Rheumat.*, **4**, Suppl. 8, Abstract 183.
19. I.L. Bonta, *Acta Physiol. Pharmac. Neerl.*, **15**, 188 (1969).
20. D.A. Gerber, *Arthritis and Rheumatism.* **9**, 795, (1966).
21. J. Schubert, *Scientific America.* **214**, 40 (1966).
22. E.J. Underwood, *Trace elements in Human and Animal Nutrition*, 3rd ed. Bcademic Press New York. 57 (1971)
23. Ts. Richardson, Letters to the editor *J. Pharm. Pharmac.*, **28**, 666 (1976)
24. J.M. McCord, *Science* (Washington) **185**, 529 (1974).
25. I. Fridorich, *Ann. Rep. Med. Chem.* **10**, 257 (1975).
26. L. Manojlovic-Muir, *Chemical Communications* 1057 (1967).
27. Hanic Michal, *Acta Cryst.* **13**, 299 (1960).
28. E. Boyle, P.C. Freeman, A.C. Goudie, F.R. Mangan and M. Thomson, *J. Pharm. Pharmac* **28**, 865 (1976).
29. C.G. Winter, E.A. Risley and G.W. Nass, *Proc. Soc. Expti. Biol. Med.* **111**, 544 (1962).
30. S.T. Corne, S.M. Morrissey, R.J. Woods, *J. Physiol.* (London) **242**, 116 (1974).
31. A.P. Green, J.E. Lander and D.H. Turner, *J. Pharm. Pharmac.*, **33**, 348 (1981).
32. C.W. Denko, *Agents and Actions* **9**, 333(1979).
33. T. Gibson, E.C. Huskission, J.A. Wojtulews, P.J. Scott, H.W. Balme, H.C. Burry, R. Grahame, F. D. Hart, *Rheumatol. Rehabil.* **15**, 211 (1976).
34. A. Conforti. L. Franco, R. Milanino and G.P. Vclo, *Proceedings of the B.P.S.*, **30th** June. 1st July, 137 (1980).
35. W. Niedermeier, *Ann. rheum. Dis.* **21**, 544 (1965).
36. T. Durrigl, I. Ruzdic, N. Subie. Atti del IX Congresso della Lega Internazionale contro il Rheumatismc, **2**, 144.
37. I. Sternlieb, I.H. Scheinberg, *J. Amer. Kled. Ass.* **189**, 146 (1964).
38. M.J. Seven, B. Klimann, R.E. Peterson, J.H. Moyer, *Clin. Res.* **6**, 148 (1956).