

흰쥐의 항염증 및 진통작용에 대한 Glucosamine Hydrochloride와 Taurine 및 그 혼합 투여시의 효과

김 옥 경

대진대학교 식품영양학과

Effects of Glucosamine Hydrochloride, Taurine and Their Combined Administration on Anti-inflammatory and Analgesic Action in Rats

Ok-Kyung Kim

Dept. of Food and Nutrition, Dajin University, Pochon 487-711, Korea

Abstract

The purpose of this study was to see the effect of anti-inflammatory and analgesic action of the glucosamine hydrochloride(GA-HCl) or taurine. Male Sprague-Dawley rats(100~250g) and ICR mice(20~30g) were used. Experimental groups were divided into seven groups, one control group given as saline and six groups given as oral administration of GA-HCl or taurine; GA-HCl 250mg/kg, b.w group, taurine 250mg/kg, b.w group, GA-HCl 250mg/kg, b.w + taurine 250mg/kg, b.w group, GA-HCl 500mg/kg, b.w group, taurine 500mg/kg, b.w group, GA-HCl 500mg/kg, b.w + taurine 500mg/kg, b.w group. Carrageenan induced edema test were shown to be significantly inhibited in the GA-HCl 250mg/kg group and taurine 250mg/kg group compared to the control group, but the GA-HCl 500mg/kg + taurine 500mg/kg group were significantly inhibited than the control group. Capillary permeability test were shown to be significantly inhibited in the taurine 500mg/kg group, but the GA-HCl 500mg/kg + taurine 500mg/kg group were significantly inhibited than the control group. Leucocyte emigration test were shown to be significantly inhibited in the GA-HCl 250mg/kg + taurine 250mg/kg group and GA-HCl 500mg/kg + taurine 500mg/kg group compared to the control group. Acetic acid, Phenyl-p-benzoquinone writhing syndrome were shown to be significantly inhibited in the GA-HCl 500mg/kg + taurine 500mg/kg group compared to the control group. Inhibitory action against COX-1 and COX-2 were not significantly inhibited in the experimental group. These results suggest that the combined administration of the GA-HCl and taurine have potential action in anti-inflammatory and analgesic action.

Key words: glucosamine hydrochloride, taurine, anti-inflammatory and analgesic action, COX

서 론

염증반응은 생체의 세포나 조직에 물리적 자극이나 화학물질, 세균감염 등의 어떠한 기질적 변화를 가져오는 침습이 가해질 때 그 손상부위를 수복 재생하려는 기전(1,2)이며, 일단 자극이 가해지면 국소적으로 histamine, serotonin, bradykinin, prostaglandins, hydroxyeicosatetraenoic acids(HETE), leukotriene과 같은 혈관 활성 물질이 유리되어 혈관 투과성이 증대되면서 염증을 유발하며(3), 이때 염증의 주요 증상인 발열, 발적, 동통, 부종, 기능상실등이 수반된다. 이의 치료를 위한 스테로이드성 항염증 물질은 두통이나 위장장애 등의 부작용으로 인해 장기간 사용이 불가능하므로 최근에는 유럽, 미국과 일본에서는 부작용이 거의 없는 비스테로이드성의 천연물질인 glucosamine sulphate와 glucosamine hydrochloride를 골관절염의 치료 및 예방용 건강식품으로써 많이 활용하

고 있으며(4-13), 이들은 자연계의 개, 새우 등의 갑각류의 외피를 탈칼슘, 탈단백화시켜 키틴을 얻은 후 황산 또는 염산으로 가수분해 후 탈색, 여과, 농축, 수세 등의 정제 과정을 거쳐 각각 얻을 수 있다(12). 또한 glucosamine은 당단백질, 당지질, 뮤코다당류 등의 중요한 생체 성분으로 폭넓게 분포하는 대표적인 천연 아미노당으로써 생체내에는 결합조직과 피부조직, 연골, 관절액 등에 분포되어 있고(11,12) 높은 보수성을 가지며 세포의 기능과 형태를 유지하고 세포접착, 증식, 분화 등 세포 표면에 있어서의 기능과 각 기관의 강도, 유연성, 탄력성을 갖는다(10,13).

특히 관절에 대한 glucosamine의 생리 기능은 연골조직의 핵심적인 구조성분인 glycosaminoglycan의 형성을 자극하며(14,15), 황이 연골로 통합되는 것도 촉진시킨다. 그러나 나이가 먹어감에 따라 인체에서 glucosamine의 형성이 충분하지 못하면 가장 흔한 관절염 형태인 골관절염 또는 퇴행성 관절염의 중요한 유발인자가 되며 골관절

염은 병이 진행됨에 따라 통증과 염증을 수반한다.

한편, taurine(2-amino ethane sulphonic acid)은 동물 조직에 널리 분포하는 황황아미노산의 하나로 간에서 담즙과 conjugation되어 있고(16) 그 생리적 의의로는 신경 전달 기능 조절작용(17-19), 삼투압 조절작용(20,21), 각막 안정작용(22), 세포막 안정화작용(23), 항산화작용(24) 등이 있다. 또한 *in vivo* 및 *in vitro*의 흰쥐 염증모델에서 유의적인 항염증 작용이 보고(25-31)되었다. 따라서 본 연구에서는 glucosamine hydrochloride(=chitosamine)이 흰쥐의 carrageenan 유발성 함염증의 작용반응에 미치는 효과를 검토하고자, 예비 실험을 해 본 결과 그 효과를 얻을 수 있었으므로 본 실험에서는 glucosamine hydrochloride(=chitosamine)과 taurine을 각각 단독 또는 혼합 투여시 항염증과 진통작용에 미치는 영향을 검토하였다.

재료 및 방법

시약

Carrageenan(Type IV), Pontamine sky blue, Phenyl-p-benzoquinone, Brewer's yeast, D(+)-glucosamine hydrochloride(GA-HCl, chitosamine), taurine은 Sigma Chem. Co.(USA)의 제품을 사용하였고, carboxymethyl cellulose(CMC)는 Junsei Chem. Co.(Japan)의 제품을 사용하였다. 기타 시약은 시판 특급 또는 1급을 사용하였다.

실험기기

Plethysmometer(No. 7150)와 Analgesy meter는 Ugo Basile(Italy)의 제품을 사용하였고, Cell-Dyn 3500는 Abbott Co. Ltd.의 것을 UV/visible spectrophotometer는 Jasco(Japan)의 제품을 사용하였다. Centrifuge는 Hanil Medicals Co. Ltd.의 것을, digital thermometer는 Shiba-ura Electronics(Japan)의 제품을 사용하였다.

실험동물 및 검액의 조제

체중 20~30g의 ICR계 웅성 생쥐와 체중 100~250g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 2주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였고, 사육시에는 삼양유지의 고품사료 및 물을 자유로이 섭취토록 하였다. 동물실 내(22~25°C)의 명암은 12시간씩으로 자동조절시켰고, 검액조제는 I군(control), II군(GA-HCl 250mg/kg, b.w), III군(taurine 250mg/kg, b.w), IV군(GA-HCl 250mg/kg, b.w + taurine 250mg/kg, b.w), V군(GA-HCl 500mg/kg, b.w), VI군(taurine 500mg/kg, b.w) VII군(GA-HCl 500mg/kg, b.w + taurine 500mg/kg, b.w)을 1% CMC saline에 용해하여 생쥐의 경우에는 체중 kg당 10ml를, 흰쥐의 경우에는 체중 kg당 5ml를 경구투여 하였으며, 언제나 실험직전에 제조하여 투여하였다.

방법

항부종작용

Winter 등의 방법(32)에 따라서 실시하였다. 즉, 체중 150~160g의 정상흰쥐를 하룻밤 절식시킨 뒤, 뒷발의 용적(V_n)을 측정된 후 조제한 검액을 경구투여하고, 30분 후 부종 유발제인 1% carrageenan-생리식염액 0.1ml를 흰쥐 뒷발바닥에 피하주사하고, 1시간 간격으로 4회에 걸쳐 뒷발의 부종 용적(V_t)을 plethysmometer로 측정하였다. 부종증가율은(%) 부종 유발전의 용적(V_n)을 기준으로 하여 그 증가율을 아래의 식으로 계산하였다.

$$\text{부종증가율(\%)} = \frac{V_t - V_n}{V_n} \times 100$$

V_n : carrageenan 주사전의 발의 용적

V_t : carrageenan 주사 일정시간 후의 발의 용적

모세혈관 투과성 억제작용

Whittle의 방법(33)에 준하여, 검액이 단백질 친화성 색소인 pontamine sky blue의 모세혈관 투과성에 미치는 영향을 검토하였다. 즉, 조제한 검액을 경구 투여한 30분 후에 0.7% 초산-생리식염액을 생쥐 몸무게 10g당 0.1ml씩 복강내에 주사하여 혈관투과성을 증대시키고, 30분 후에 pontamine sky blue 4%액 0.1ml씩을 꼬리에 정맥주사하고 30분 후 복강액을 채취하여 원심분리(3000 rpm, 10분)한 다음, 590nm 자외부 흡수 스펙트럼 하에서 혈관 투과성의 정도를 검정하였고, 투과성 억제율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{투과성 억제율(\%)} =$$

$$\frac{\text{대조군의 모세혈관 투과량} - \text{검액군의 모세혈관 투과량}}{\text{대조군의 모세혈관 투과량}}$$

백혈구 유주 억제 작용

검액이 백혈구 유주에 미치는 영향을 평가하기 위하여 Ishikawa 등(34)과 Tsurumi 등(35)의 CMC air-pouch법에 준하여 실험을 실시하였다. 백혈구 유주(遊走)라 함은 생체내에 이물질이 침투하면 그곳으로 백혈구가 이동하는 것을 말하며 그 수가 증가된다. 따라서 검액이 항염증 작용을 갖기 위해서는 백혈구 유주 억제 작용을 가져야 한다. 즉, 200~250g의 흰쥐 8마리를 1군으로 하여 등부의 털을 제거하고 알코올 소독하여 공기 8ml를 피하주사하여 공기주머니를 형성시켰으며, 공기주머니가 형성된 24시간 뒤, 멸균된 2% CMC-생리식염액 5ml를 공기주머니 내에 주입하고, 곧이어 검액도 2% CMC-생리식염액에 함께 현탁시켜 주입하여 백혈구 유주를 유발시켰다. 6시간 후 공기주머니 속의 삼출액을 전액 취해서 계량한 후, 일정량을 취해서 이종의 백혈구를 Cell-Dyn 3500을 이용하여 계수하였다.

초산유발 writhing syndrome 억제작용

체중 25g 내외의 생쥐를 사용하여 Koster 등의 방법(36)에 준하여 실시하였다. writhing syndrome이라 함은 복강내에 들어온 이물질에 의한 경련의 한 형태로 뒷다리를 짹짹 뻗어 일자 모양의 자세를 취하는 것을 말한다. 즉, 검액을 경구투여하고 30분 후에 0.7% 초산-생리식염용액을 생쥐 몸무게 10g당 0.1ml씩 복강내에 주사하고 5분 후부터 10분간에 나타나는 writhing 증상의 발생수를 계수하였다.

PBQ 유발 writhing syndrome 억제작용

Parks와 Pickens의 방법(37)에 준하여 실시하였다. 즉, 25g 내외의 생쥐에 검액을 경구 투여한 후 0.02%의 phenyl-p-benzoquinone(PBQ) 에탄올수용액을 생쥐 몸무게 10g당 0.1ml씩 복강주사한 5분 후부터 10분간의 writhing syndrome의 발생수를 계수하였다. 이때 PBQ는 10mg을 2.5ml의 따뜻한 에탄올에 용해시킨 후, 50~60°C의 증류수를 가하여 전체양이 50ml가 되도록 하였고 실험기간 동안 40°C를 유지하도록 하였다.

Randall-Selitto법

체중 90~110g의 흰쥐를 1군 8마리로 하여 Randall과 Selitto(38), Winter와 Flataker(39)의 방법에 준하여 실시하였다. 이 방법은 염증부위의 동통에 대한 감수성을 증대시켜 그 증대된 감수성이 진통제에 의해 억제되는 것에 기초한 것이다. 즉, 흰쥐를 하루밤 절식시킨 뒤, 압력이 일정한 속도로 가중되는 장치인 analgesy meter를 이용하여 300g의 압력에서도 반응하지 않는 흰쥐를 먼저 제외시킨 다음, 20% brewer's yeast-생리식염수 현탁액 0.1ml씩을 흰쥐의 발바닥에 피하주사하여 염증을 유발시키고, 2시간 후에 검액을 투여한 다음, 30분과 90분에 analgesy meter로 동통역치(g)를 측정하였다. 동통역치는 analgesy meter를 이용하여 흰쥐의 발바닥에 16g/sec의 속도로 서서히 압력을 가하여, 흰쥐가 발을 빼려고 하거나 몸을 뒤를 때를 end point로 하였다. 진통작용 유무의 판정은 Swingle 등(40)의 방법에 따랐다. 즉, 검액 투여군의 각 동통역치가 대조군의 평균 동통역치의 표준편차의 2배보다 더 클 때를 진통작용이 있다(protected)고 판정하였다.

Radiometric COX(Cyclooxygenase) assay

Cell and cell culture

Lee 등(41)의 방법에 따라 사람의 erythroleukemia cell line(HEL)과 mouse의 macrophage cell line인 J774A.1을 ATCC로부터 구입하여 5% fetal bovine serum이 포함된 RPM1640배지로 37°C, 5% CO₂ 세포 배양기에서 배양하였다.

Bovine seminal vesicle (BSV)로부터 COX 효소원의 제조

냉동 보관된 BSV를 homogenizing buffer(0.05 M Tris-HCl, pH 8.0, 5mM diethyldithiocarbamate(DDC))속에서 30초 동안 분쇄하였다. 13,000g에서 30분간 원심분리하고 난 후, 상층액을 130,000g에서 60분 동안 다시 원심분리시켰다. 침전물을 homogenizing buffer(0.05 M Tris-HCl, pH 8.0, 0.1 M sodium perchlorate, 0.1mM EDTA, 0.1mM DDC)속에서 재분쇄시킨 다음 130,000×g에서 60분간 원심분리시켰으며, 분리된 상층액을 COX 효소로 사용하였다.

Radiometric COX-1 assay

Prostaglandin류의 생합성 억제제를 찾기 위해서 radiolabelled arachidonic acid를 이용하여 생성된 metabolite 들을 정량함으로써 검액들의 억제효과를 검사하였다. 즉 Moroney 등(42)의 방법에 따라 3~4일간 배양한 HEL 92.1.7 세포를 2×10⁶ cell microtite plate에 분주한 다음 검액 시료를 농도에 맞게 처리한다. 처리된 plate를 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 세포배양기에서 배양한다. 배양된 plate를 3,000g, 10분간 원심분리한 다음 상층액을 버리고 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)로 세척한 다음 원심분리하고 200μl의 PBS로 현탁액을 만든다. 1μM Calcium ionophore A23187과 [1-¹⁴C]arachidonic acid solution(in EtOH, 0.05μCi/ml)를 넣고 10분간 37°C에서 반응시켰다. 1M citric acid 10μl로 반응을 정지시키고 반응동안 생성된 COX-1 생성물(prostanoids)을 ethyl acetate 500μl가 들어 있는 eppendorf tube에 옮긴다. 30분간 진공 건조시킨 다음, 다시 200μl의 ethyl acetate에 녹여 TLC를 실시하였다. 전개용매(chloroform-methyl alcohol-acetic acid-water, v/v, 90 : 10 : 1 : 1)속에서 90분간 실온에서 전개시켰다. Najid 등(43)의 방법에 따라 TLC plate를 Fuji BAS-IIIs imaging plate에 부착시켜 48시간 동안 두어 감광시켰다. BAS-1500 bioimaging analyzer를 사용하여 prostanoid bands를 정량하였다. 검액의 COX-1억제 정도는 검액 대신에 DMSO만 처리한 대조군의 ¹⁴C-labelled prostanoid의 양과 비교(% of control)하였다.

Radiometric COX-2 assay

COX-2 assay는 Arias 등(44)과 O'Sullivan 등(45)의 방법에 따라 J774A.1 macrophage cell을 150cm² 세포 배양 flask에서 3~4일 배양하고, 배양된 J774A.1 macrophage를 24-well microtiter plate에 2×10⁵ cell씩 분주하고, 37°C의 incubator에서 안정화시켜 cell이 plate기벽에 잘 부착되도록 하였다. 24시간 후, COX-1의 효과를 제거하기 위하여 aspirin용액(2μg/ml)을 첨가하고, COX-2를 유도하기 위해 LPS(2.5μg/ml)를 넣은 다음, 각 농도의 검액을 주입하고 상기와 같은 조건의 incubator에 두었다. 배양

된 세포를 세척한 후 PBS 180μl씩 넣어 현탁액으로 만든 cell에 calcium ionophore A23187 1μM와 [1-¹⁴C] arachidonic acid solution(0.025μCi)를 넣고 10분간 37°C에서 반응시켰다. 이후의 실험내용은 COX-1 assay방법과 동일하였다.

Oxygen uptake COX assay

Dewitt 등(46)의 방법에 따라 prostaglandin endoperoxide synthase는 효소와 arachidonic acid의 존재하에서 산소 모니터링 기기를 사용하여 산소흡수의 최대치를 측정하여 결정하였다. 반응용액(0.2 M sodium phosphate buffer, pH 7.4, 3μM hematine, 0.4mM hydroquinone, 0.3 mM arachidonic acid)에 측정하고자 하는 검액농도와 효소를 첨가하여 반응을 시작하였다. 산소 흡수 곡선의 직선에 대한 tangent값으로 그 속도를 측정하였다. BSV COX-1에 대한 검액 시료의 저해 효과는 DMSO 대조군에 대한 산소 흡수율의 비교값으로 나타내었다.

정상체온에 미치는 영향

숫컷 생쥐의 직장체온을 디지털 전자체온계로 측정한다음, 안정적인 것을 선택하여 검액을 경구투여하고 30분, 60분, 120분에 직장체온을 다시 측정하여 변화 유무를 관찰하였다.

통계 처리

모든 실험 결과는 평균치와 표준오차로 표기(mean ± SE)하고, 대조군과의 비교는 Student's *t*-test를 사용하였으며, 대조군과 비교하여 *p* 값이 5% 미만일 때를 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

항부종작용

Carrageenan유발 부종의 억제효과에 대한 결과는 Ta-

ble 1과 같다. GA-HCl 250mg을 투여한 II군과 taurine 250mg을 투여한 III군에서 각각 3시간과 4시간후 유의적인 부종억제 효과를 나타냈으며, 이들 용량으로 혼합하여 투여한 IV군과 taurine 500mg을 투여한 VI군에서는 4시간후에 유의적인 부종억제 효과를 나타내었다. GA-HCl 500mg과 taurine 500mg의 혼합투여군인 VII군에서는 2시간에서부터 유의적인 억제 효과를 나타내었다. 이는 Setnikar 등(14,15)이 glucosamine sulfate를 carrageenan 유발 흰쥐에게 투여시 큰 효과가 없다는 보고와 상반되었다. 그러나 Stapleton 등(31)이 carrageenan유발 흰쥐의 부종 실험에서 taurine을 투여시 유의적인 억제효과를 보고한 것과 비슷하였다. 부종의 원인은 Rosa 등(47)에 의하면 carrageenan 주사후 1.5시간까지는 histamine과 serotonin이, 2.5시간까지는 kinin류가, 2.5시간 이후로는 arachidonic acid의 cyclooxygenase에 의한 대사 산물인 PG류가 관여한다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 항부종효과를 나타낸 검액들이 COX-1과 COX-2를 분석한 결과 그 억제 정도가 약하였으므로 cyclooxygenase나 lipoxxygenase에 의해 생성된 prostaglandin류의 생합성 억제 능력보다는 Setnikar 등(9,14)의 보고에 따라 macrophages에 의한 O₂⁻, OH⁻, H₂O₂의 생성을 억제하여 조직의 연골보호제로써 작용하는 것으로 추측된다.

모세혈관 투과성 억제작용

단백질 친화성 색소인 pontamin sky blue를 투여하여 복강내로 투과되는 색소의 양을 검액이 억제하는 정도를 관찰한 결과는 Table 2와 같다. 대조군에 비해 검액을 투여한 나머지 군에서 혈관 투과성을 억제하였으나 유의적인 것은 아니었다. 그러나 taurine 500mg을 투여한 VI군과 GA-HCl 500mg과 taurine 500mg을 혼합하여 투여한 VII군에서는 유의적인 억제 작용을 나타내었다. 이는 급성 염증 반응의 제1기 즉, 국소자극에 의한 조직장해가 오고, 혈관 내피 세포의 변화로 혈관이 확장되고 혈관투과성이

Table 1. The anti-edematous effect of glucosamine hydrchloride, taurine and their combined administrations in carrageenan induced paw edema in rats

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w) | No. of animals | Increase Percent of Paw Volume | | | |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------|--------------------------------|--------------|---------------|--------------|
| | | | 1 hr | 2 hr | 3 hr | 4 hr |
| Control(I) | - | 8 | 70.9 ± 7.0 ²⁾ | 98.0 ± 7.9 | 104.4 ± 6.7 | 102.3 ± 10.3 |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 60.0 ± 7.5 | 89.2 ± 10.0 | 77.5 ± 9.3* | 98.9 ± 8.6 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 79.7 ± 8.0 | 87.5 ± 5.0 | 90.3 ± 10.3 | 72.6 ± 6.7* |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 59.3 ± 8.7 | 84.8 ± 8.7 | 88.1 ± 10.5 | 69.2 ± 6.1* |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 80.6 ± 10.5 | 95.9 ± 9.3 | 92.8 ± 11.2 | 83.6 ± 11.6 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 75.1 ± 9.2 | 89.3 ± 6.2 | 74.4 ± 8.9* | 65.5 ± 9.4* |
| GA-HCl+Taurine(VII) | 500 | 8 | 68.2 ± 7.6 | 60.0 ± 7.5** | 61.4 ± 10.8** | 63.9 ± 9.9* |

¹⁾mg/kg body weight, oral administration

²⁾Mean ± Standard error

³⁾(D+)-glucosamine hydrochloride

*Significantly different from the control group at *p*<0.05

**Significantly different from the control group at *p*<0.01

Table 2. The effect of glucosamine hydrochloride, taurine and their combined administrations on vascular in mice

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No. of animals | Pontamine sky blue ⁴⁾ (µg) | Inhibition(%) |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------|---------------------------------------|---------------|
| Control(I) | - | 8 | 118.0±13.4 ²⁾ | - |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 93.7±12.5 | 20.6 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 92.9± 7.3 | 21.3 |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 108.7±18.4 | 7.9 |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 89.4±19.3 | 24.3 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 80.6± 9.8* | 31.7 |
| GA-HCl+Taurine(VIII) | 500 | 8 | 78.7±10.7* | 33.3 |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

⁴⁾The quantities of pigment into peritoneal fluid were determined.

항진되는 시기(3)에 검체에 의한 모세혈관 투과성이 억제된 것으로 생각된다.

백혈구 유주 억제작용

각 검액을 pouch내에 직접 주입하여 CMC-air-pouch 방법에 따라 백혈구 유주에 미치는 영향을 검토한 결과는 Table 3과 같다. 공기낭에 CMC를 주입하면 3시간까지는 완만하게 일어나다가, 이 이후 급속한 증가를 나타내어 7.5시간에는 백혈구수가 최고로 상승하게 되는데(48), CMC를 주입한 6시간 후의 삼출액양은 대조군에 비하여 나머지군에서 별다른 차이를 보이지 않았으며, 대조군에서의 전체 삼출액 중의 백혈구 수가 61.87×10^6 개로써 나머지군에 비하여 유의할만한 백혈구 유주가 일어났음을 알 수 있었다. 백혈구 유주 억제작용은 GA-HCl과 taurine을 혼합투여한 IV과 VII군에서 대조군에 비하여 유의적인 백혈구 유주 억제작용을 나타내었다.

초산유발 Writhing의 억제작용

각 검액을 경구 투여하였을 때 초산으로 유발한 Writhing을 억제하는지에 대한 결과를 Table 4에 나타내었다. 0.7% 초산을 복강내 투여하여 통증을 유발시킨 5분후부터 Writhing syndrom의 발생수를 10분간 계수하였을 때 초기 5분간은 대조군에 비해 검액을 투여한 군에서 억제 작용을 나타내지 않았다. 그러나 5분에서 10분간은 GA-HCl 500mg과 taurine 500mg의 혼합 투여군인 VII군에서는 유의적인 억제효과를 나타내었다. 이 결과 단독으로 투여하였을 경우 진통효과는 없었으나 혼합투여시 진통 효과가 있음을 알 수 있었다.

PBQ 유발 Writhing syndrome 억제작용

PBQ로 유발시킨 writhing syndrome을 억제하는 지를 검토한 결과는 Table 5와 같다. PBQ를 복강내 투여한 5분까지는 writhing syndrom의 발생수의 억제를 나타내지

Table 3. The effect of glucosamine hydrochloride, taurine and their combined administrations on leucocyte emigration into CMC-pouch in rats

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No. of animals | Volume of pouch fluid (ml) | Number of leucocytes | |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|
| | | | | mm ³ of exudate | Total($\times 10^6$) |
| Control(I) | - | 8 | 3.8±0.3 ²⁾ | 16,328.6± 730.0 | 61.9± 7.5 |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 3.5±0.3 | 15,116.7±2,963.7 | 48.0±15.5 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 3.2±0.2 | 14,741.7±1,636.6 | 41.2± 9.8 |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 3.2±0.2 | 12,068.6±1,485.2* | 40.0± 6.6* |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 3.4±0.1 | 13,814.3±1,196.7 | 46.5± 4.2 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 3.3±0.1 | 13,911.4± 980.4 | 46.1± 3.4 |
| GA-HCl+Taurine(VII) | 500 | 8 | 3.1±0.1 | 13,504.3± 916.4* | 42.7± 4.2* |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

Table 4. The analgesic effect of glucosamine hydrochloride, taurine and their combined administrations on acetic acid induced writhing syndrome in mice

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No. of animals | Number of writhing | |
|---------------------------|--------------------------------------|----------------|------------------------|-----------|
| | | | 0~5min | 5~10min |
| Control(I) | - | 8 | 20.8±3.4 ²⁾ | 15.7±2.7 |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 22.9±3.7 | 12.0±0.9 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 18.3±3.5 | 9.7±1.7 |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 21.6±2.8 | 9.3±1.3 |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 20.2±3.2 | 11.2±2.2 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 19.4±2.5 | 10.2±1.3 |
| GA-HCl+Taurine(VII) | 500 | 8 | 14.9±2.6 | 7.3±2.1** |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

못하였으나 10분까지는 대조군에 비해 검액을 투여한 군에서 억제력을 나타내었으며 특히 GA-HCl 500mg과 taurine 500mg을 혼합 투여한 VII군에서 유의적인 억제효과를 나타내어 진통효과가 있음을 알 수 있었다.

Randall-Selitto법

이 결과는 Table 6과 같다. 흰쥐 발바닥에 yeast를 주사하여 유발시킨 염증에 의한 동통역치를 측정하였을 때, yeast를 주사하지 않은 발의 동통역치에 비하여 현저히 그 역치가 낮아져 통증이 확실히 유발되었음을 보여주고 있다. 검액을 투여한 30분후에는 대조군의 동통역치에 비하여 수치의 큰 증가가 없었으나 GA-HCl 500mg과 taurine 500mg을 혼합 투여한 VII군에서 유의적인 동통역치 증가는 아니었지만 대조군인 I 군의 표준편차값의 2배보다는 큰 값을 나타낸 흰쥐의 수가 8마리중 2마리였으므로 25%의 protected를 나타내어 약간의 진통작용이 있음을 나타내었다. 90분 후에도 대조군에 비하여 검액 투여군에서 증가된 동통역치를 나타내지는 않았지만 VII군에서 37.5%의 protected percent를 나타내어 약간의 진통 작용이 있음을 나타내었다.

COX-1과 2의 억제효과

Prostaglandin, thromboxane, prostacyclin과 같은 prostanoids의 생합성은 물리적, 화학적 및 호르몬자극에 의

해 증강되고, 이러한 것들은 염증의 주요 증후의 하나로써 작용하게 된다(49). 이러한 prostanoid 합성의 조절에 중요한 역할을 하는 것이 cyclooxygenase(COX)이다.

COX는 조직분포와 조절에 따라 COX-1과 COX-2의 두가지 이성질체가 존재한다(50). COX-1(constitutive cyclooxygenase)가 vascular homeostasis, renal blood flow의 조절, glomerular filtration rate의 조절 등 생리학적 기능을 위한 prostanoids를 합성하기 위해 일정하게 발현된다면(51,52), COX-2(inducible cyclooxygenase)는 염증 반응이 일어나는 동안 monocytes와 fibroblasts같은 특정 세포 유형에서 growth factor, endotoxin, mitogen, cytokine 등과 같은 inflammation mediator들에 의해서 합성이 유도되는 것으로 보고되고 있다(45,51,53,54). 이들의 평균가는 1C(inhibitory concentration)값으로 검액의 억제 효과를 측정하지만, 본 실험에서는 그 억제효과가 미약하였으므로 대조군과의 relative activity%로 나타내었고 100에서 이 값을 뺀 것이 억제작용이 된다. 따라서 GA-HCl과 taurine을 단독으로 처리한 경우는 0.32, 1.6, 8, 40, 200 µg/ml농도와 혼합인 경우는 0.16, 0.8, 4, 20, 100µg/ml와 0.32, 1.6, 8, 40, 200µg/ml의 농도로써 HEL 세포주에서의 COX-1 억제효과와 GA-HCl과 taurine을 단독 또는 혼합한 0.32, 1.6, 8, 40, 200µg/ml 농도에서 LPS로 처리한 J774A.1 macrophage에서의 COX-2 억제효과에 대한 검액의 억제 작용 여부를 검토한 결과는 Figs. 1~4와 같다.

Table 5. The analgesic effect of glucosamine hydrichloride, taurin and their combined administrations on phenyl-p-benzoquinone(PBQ) induced writhing syndrome in mice

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No. of animals | Number of writhing | |
|---------------------------|---|----------------|--------------------------|--------------------------|
| | | | 0~5 min | 5~10 min |
| Control(I) | - | 8 | 26.7 ± 1.5 ²⁾ | 20.6 ± 1.3 |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 23.3 ± 1.8 | 17.1 ± 2.4 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 22.1 ± 4.1 | 18.0 ± 2.0 |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 26.6 ± 2.1 | 20.0 ± 1.0 |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 24.29 ± 2.5 | 13.6 ± 2.0 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 26.7 ± 2.1 | 13.7 ± 2.7 |
| GA-HCl+Taurine(VII) | 500 | 8 | 25.3 ± 1.8 | 10.4 ± 2.5 ³⁾ |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

Table 6. The effect of glucosamine hydrochloride, taurine and their combined administrations on Randall-Selitto assay in rat paw

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No of animals | 30 min | | | 90 min | | |
|---------------------------|---|---------------|--------------------------|---------------|---------------|--------------------|--------------|---------------|
| | | | Pain threshold (g) | | Protected (%) | Pain threshold (g) | | Protected (%) |
| | | | Inflamed | Non-inflamed | | Inflamed | Non-inflamed | |
| Control(I) | - | 8 | 83.0 ± 6.8 ²⁾ | 151.4 ± 7.7 | - | 89.6 ± 6.2 | 154.3 ± 8.6 | - |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 86.8 ± 6.5 | 155.7 ± 10.0 | - | 71.2 ± 2.6 | 145.7 ± 9.2 | - |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 80.4 ± 10.9 | 160.1 ± 8.7 | - | 82.7 ± 8.3 | 159.8 ± 8.2 | - |
| GA-HCl+Taurin(IV) | 250 | 8 | 90.2 ± 8.6 | 162.50 ± 10.6 | - | 78.2 ± 6.5 | 153.8 ± 10.3 | - |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 74.5 ± 11.2 | 153.3 ± 7.0 | - | 75.0 ± 6.0 | 160.1 ± 8.3 | - |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 88.3 ± 12.6 | 158.1 ± 7.3 | - | 90.6 ± 9.4 | 161.4 ± 9.8 | 37.5 |
| GA-HCl+Taurin(VII) | 500 | 8 | 93.9 ± 7.0 | 152.5 ± 5.0 | 25 | 92.8 ± 9.2 | 143.8 ± 7.5 | - |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

먼저, 검액을 단독 또는 혼합액과 ¹⁴C-labelled arachidonic acid의 대사산물을 TLC하여 검광시켰을 때의 결과는 Fig. 1, 2와 같다. DMSO만을 처리한 대조군인 arachidonic acid의 COX-1에 의한 대사산물인 prostaglandinF_{2α}, thromboxaneB₂, prostaglandinE₂ 및 prostaglandinD₂ 모두 진한 밴드를 나타내어 많은 양이 생성되었음을 알 수 있다. 그러나 검액을 단독 또는 혼합용액으로 처리한 결과, 대조군에 비하여 밴드의 색이 옅어짐으로 보기에 크게 흐려지지 않아 억제작용이 적음을 알 수 있었다. 또한 COX-2에 의한 대사산물인 prostaglandinE₂와 prostaglandinD₂의 형성에 대하여 검액을 단독으로 처리한 Fig.

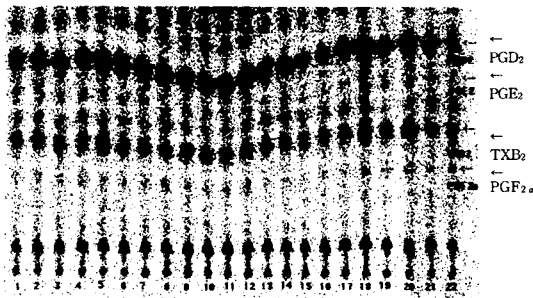


Fig. 1. Autoradiographed TLC-chromatogram of inhibitory effects on COX-1 activity in HEL 92.1.7. cells for taurine and glucosamine hydrochloride(GA-HCl).

Lane 1 and 2: Control(DMSO), Lane 3 and 4: Taurine 200µg/ml, Lane 5 and 6: Taurine 40µg/ml, Lane 7 and 8: Taurine 8µg/ml, Lane 9 and 10: Taurine 1.6µg/ml, Lane 11 and 12: Taurine 0.32µg/ml, Lane 13 and 14 : GA-HCl 200µg/ml, Lane 15 and 16: GA-HCl 40µg/ml, Lane 17 and 18: GA-HCl 8µg/ml, Lane 19 and 20: GA-HCl 1.6µg/ml, Lane 21 and 22: GA-HCl 0.32µg/ml.

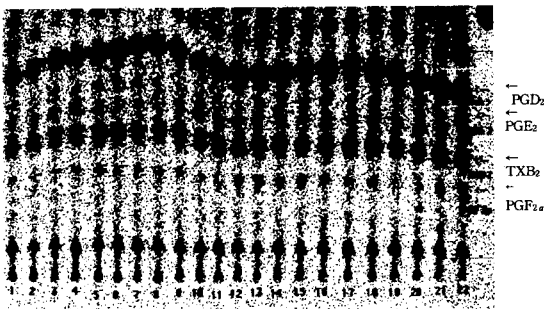


Fig. 2. Autoradiographed TLC-chromatogram of COX-1 activity in HEL 92.1.7 cells for taurine and glucosamine hydrochloride(GA-HCl).

Lane 1 and 2: Control(DMSO), Lane 3 and 4: Taurine 200µg/ml+GA-HCl 200µg/ml, Lane 5 and 6: Taurine 40µg/ml+GA-HCl+40µg/ml, Lane 7 and 8: Taurine 8µg/ml+GA-HCl 8µg/ml, Lane 9 and 10: Taurine 1.6µg/ml+GA-HCl 1.6µg/ml, Lane 11 and 12: Taurine 0.32µg/ml+GA-HCl 0.32µg/ml, Lane 13 and 14: Taurine 100µg/ml+GA-HCl 100µg/ml, Lane 15 and 16: Taurine 20µg/ml+GA-HCl 20µg/ml, Lane 17 and 18: Taurine 4µg/ml+GA-HCl 4µg/ml, Lane 19 and 20: Taurine 0.8µg/ml+GA-HCl 0.8µg/ml, Lane 21 and 22: Taurine 0.16µg/ml+GA-HCl 0.16µg/ml.

3과 혼합용액으로 처리한 Fig. 4에서도 DMSO만을 처리

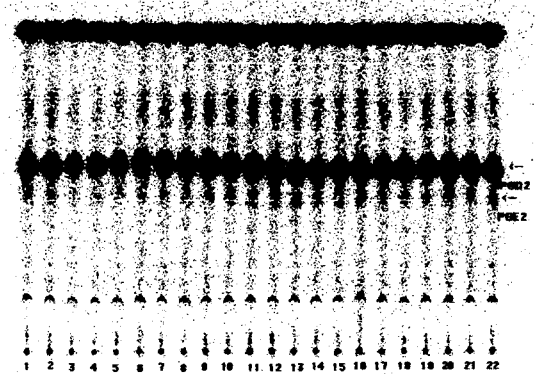


Fig. 3. Autoradiographed TLC-chromatogram of inhibitory effects on COX-2 activity induction in LPS-activated J774.1 macrophages for taurine and glucosamine hydrochloride(GA-HCl).

Lane 1 and 2: Taurine 200µg/ml, Lane 3 and 4: Taurine 40µg/ml, Lane 5 and 6: Taurine 8µg/ml, Lane 7 and 8: Taurine 1.6µg/ml, Lane 9 and 10: Taurine 0.32µg/ml, Lane 11 and 12: Control(DMSO), Lane 13 and 14 : GA-HCl 200µg/ml, Lane 15 and 16: GA-HCl 40µg/ml, Lane 17 and 18: GA-HCl 8µg/ml, Lane 19 and 20 : GA-HCl 1.6µg/ml, Lane 21 and 22: GA-HCl 0.32µg/ml.

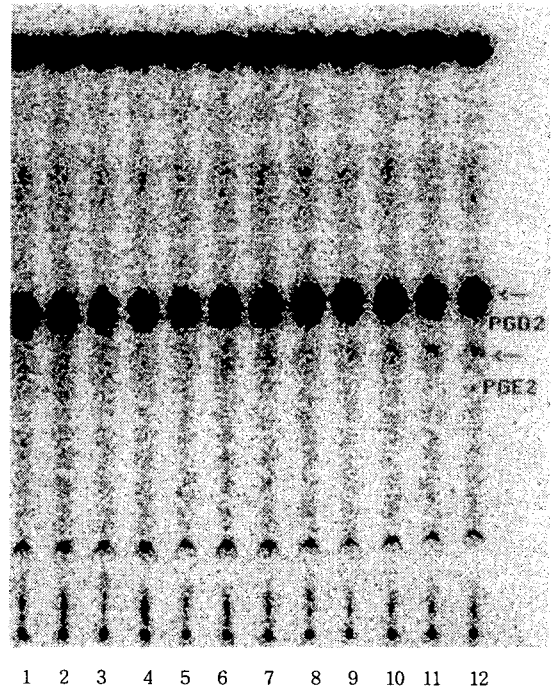


Fig. 4. Autoradiographed TLC-chromatogram of inhibitory effects on COX-2 activity induction in LPS-activated J774.1 macrophages for taurine and glucosamine hydrochloride(GA-HCl).

Lane 1 and 2: Control(DMSO), Lane 3 and 4: Taurine 200µg/ml+GA-HCl 200µg/ml, Lane 5 and 6: Taurine 40µg/ml+GA-HCl 40µg/ml, Lane 7 and 8: Taurine 8µg/ml+GA-HCl 8µg/ml, Lane 9 and 10: Taurine 1.6µg/ml+GA-HCl 1.6µg/ml, Lane 11 and 12: Taurine. 0.32µg/ml+GA-HCl 0.32µg/ml.

Table 7. Inhibitory effects of glucosamine hydrochloride(GA-HCl) and taurine against COX-1 activities in HEL 92.1.7 and COX-2 activities in LPS induced J774A.1 cell culture systems

| Samples ¹⁾ | COX-1 activity (Relative activity, % of control) | | | | COX-2 activity (Relative activity, % of control) | | |
|------------------------------|---|------------------|------------------|------------------|---|------------------|-------|
| | PGF _{2α} | TXB ₂ | PGE ₂ | PGD ₂ | PGE ₂ | PGD ₂ | |
| DMSO | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | |
| GA-HCl | 0.32μg/ml | 84.7 | 78.8 | 81.0 | 57.9 | 96.1 | 82.6 |
| | 1.6μg/ml | 90.5 | 98.2 | 86.6 | 95.2 | 93.2 | 86.9 |
| | 8μg/ml | 108.1 | 94.2 | 76.9 | 80.0 | 88.3 | 81.9 |
| | 40μg/ml | 90.4 | 78.5 | 71.3 | 56.2 | 104.2 | 100.1 |
| | 200μg/ml | 82.9 | 89.3 | 85.5 | 77.0 | 111.1 | 92.9 |
| Taurine | 0.32μg/ml | 93.9 | 110.9 | 91.6 | 100.3 | 101.8 | 91.8 |
| | 1.6μg/ml | 102.2 | 104.1 | 91.4 | 90.0 | 71.0 | 51.5 |
| | 8μg/ml | 103.1 | 107.8 | 100.4 | 101.1 | 74.5 | 67.6 |
| | 40μg/ml | 95.4 | 104.0 | 89.9 | 96.0 | 82.8 | 77.6 |
| | 200μg/ml | 91.7 | 92.6 | 85.0 | 85.6 | 88.2 | 86.9 |
| GA-HCl + Taurine, each | 0.32μg/ml | 80.0 | 92.4 | 73.7 | 90.8 | 95.6 | 68.3 |
| | 1.6μg/ml | 77.2 | 79.1 | 71.7 | 80.6 | 98.1 | 88.1 |
| | 8μg/ml | 83.7 | 86.0 | 77.5 | 85.4 | 101.9 | 87.4 |
| | 40μg/ml | 90.3 | 118.9 | 83.7 | 106.2 | 102.7 | 83.5 |
| | 200μg/ml | 75.3 | 90.2 | 90.2 | 76.6 | 102.7 | 73.2 |

¹⁾Duplicate samples were used at each point.

한 대조군에 비하여 밴드의 색이 크게 흐려지지 않아 억제 작용이 적음을 알 수 있었다. 이것을 정량하여 그 억제 정도를 검정한 결과, Table 7과 같았다. COX-1의 억제 작용은 단독처리일 경우는 GA-HCl 40μg/ml 농도에서 taurine은 200μg/ml 농도에서, 이들 혼합용액으로 처리한 경우는 1.6μg/ml 농도에서 TXB₂, PGE₂, PGD₂의 억제작용이 대조군인 DMSO처리한 것에 비하여 약간 있었다. 한편, COX-2의 억제작용은 단독처리일 경우는 GA-HCl은 8μg/ml농도에서, taurine은 1.6μg/ml 농도에서, 혼합용액인 경우는 0.32μg/ml 농도에서 PGE₂와 PGD₂의 억제작용이 DMSO처리한 것에 비하여 약간 있었다. 전체적으로 볼 때 GA-HCl과 taurine의 모든 농도에서 뚜렷한 저해효과는 없었으나 GA-HCl의 경우 모든 농도에서 COX-1의 억제작용이 COX-2보다 약간 컸으며, taurine은 COX-1보다 COX-2의 억제작용이 약간 있었음을 알 수 있었고, 혼합용액에서는 GA-HCl과 taurine을 각각 투여한 것보다 현저한 차이는 아니지만 약간의 억제작용이 있었으며, COX-2보다 COX-1의 억제작용이 약간 있었음을 알 수 있었다.

O₂ uptake COX-억제효과

O₂흡수에 대한 GA-HCl과 taurine의 농도는 최종 농도 1mg/ml에서 5배씩 희석하였으며, 혼합용액의 경우는 1mg/ml과 0.5mg/ml의 최종 농도가 되게 5배씩 희석하여 실험한 결과 Table 8과 같다. O₂흡수에 대한 COX 억제작용은 단독으로 처리하였을 경우, GA-HCl은 40μg/ml에서 taurine은 8μg/ml에서 대조군인 DMSO에 비하여 약간의 억제작용을 나타내었다. 혼합용액의 경우는 500μg/

Table 8. Inhibitory effects of glucosamine hydrochloride (GA-HCl) and taurine against COX activity using bovine seminal vesicle tissue extract as an enzyme source

| Sample ¹⁾ | COX activity (Relative O ₂ uptake, % of control) | |
|---------------------------|---|-------|
| DMSO | 100 | |
| GA-HCl | 1.6μg/ml | 95.6 |
| | 8μg/ml | 108.9 |
| | 40μg/ml | 82.2 |
| | 200μg/ml | 95.6 |
| | 1000μg/ml | 93.3 |
| Taurine | 1.6μg/ml | 100.0 |
| | 8μg/ml | 86.7 |
| | 40μg/ml | 88.9 |
| | 200μg/ml | 86.7 |
| | 1000μg/ml | 88.9 |
| GA-HCl + Taurine, each | 0.8μg/ml | 93.3 |
| | 4μg/ml | 97.8 |
| | 20μg/ml | 97.8 |
| | 100μg/ml | 80.0 |
| | 500μg/ml | 77.8 |
| GA-HCl + Taurine, each | 1.6μg/ml | 82.2 |
| | 8μg/ml | 82.2 |
| | 40μg/ml | 82.2 |
| | 200μg/ml | 77.8 |
| | 1000μg/ml | 73.3 |

¹⁾Duplicate samples were used at each point.

ml보다 1,000μg/ml에서 조금 강한 억제작용을 나타내어 농도 의존적인 작용을 나타내었다.

정상체온에 미치는 영향

검액을 경구 투여하였을 때 정상체온을 하강시키는 지에 대한 결과는 Table 9에 나타내었다. 대조군에 비하여

Table 9. The effects of glucosamine hydrochloride, taurine and their combined administrations on rectal temperature in mice

| Experimental group | Dose ¹⁾ (mg/kg, b.w, p.o) | No of animals | Temperature(°C) | | | |
|---------------------------|---|------------------|------------------------|----------|----------|----------|
| | | | 0 min | 30 min | 60 min | 120 min |
| Control(I) | - | 8 | 37.4±0.2 ²⁾ | 36.8±0.4 | 37.2±0.3 | 37.0±0.3 |
| GA-HCl ³⁾ (II) | 250 | 8 | 38.0±0.6 | 37.3±0.1 | 37.3±0.4 | 37.3±0.2 |
| Taurine(III) | 250 | 8 | 38.6±0.4 | 37.6±0.1 | 37.7±0.1 | 37.5±0.1 |
| GA-HCl+Taurine(IV) | 250 | 8 | 38.4±0.1 | 38.0±0.3 | 37.4±0.4 | 37.4±0.2 |
| GA-HCl(V) | 250 | 8 | 37.2±0.3 | 37.8±0.3 | 37.1±0.3 | 37.3±0.2 |
| Taurine(VI) | 500 | 8 | 37.8±0.3 | 37.7±0.2 | 37.2±0.1 | 37.2±0.1 |
| GA-HCl+Taurine(VII) | 500 | 8 | 37.7±0.3 | 37.7±0.3 | 37.3±0.2 | 37.3±0.2 |

¹⁾⁻³⁾Same as in Table 1

검액 투여군에서 유의적인 차이를 나타내지 않아, 정상체온에 아무런 변화가 없음을 알 수 있었으며, 외관상으로도 별다른 이상이 없었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 GA-HCl과 taurine의 항염증과 진통작용을 검토한 결과, 이 검액을 각각 투여한 군에서는 그 작용이 비슷하였으나 GA-HCl 500mg/kg과 taurine 500mg/kg을 혼합하여 투여한 군에서는 항염증과 진통작용의 유의성 있는 효과를 나타내었으며, COX-1과 COX-2의 억제효과를 실험한 결과는 큰 효과를 나타내지 않았으므로 이들 검액이 cyclooxygenase에 의한 prostanoid의 합성에 의한 염증유발 억제작용보다는 macrophage에 의한 O₂, H₂O₂, OH⁻, NO 등의 생성을 억제하는 것으로 추측되며, 앞으로 이들의 억제작용의 반응과정과 안정성을 확인하기 위한 연구가 수행되어야 한다고 사료되고, GA-HCl(Chitosamine)은 갑각류의 껍질에서 쉽게 얻어질 수 있으므로 염증, 골관절염, 류마티즘 등의 치료나 예방의 차원에서 그 효용성이 클 것으로 사료된다.

요 약

Glucosamine hydrochloride(GA-HCl, chitosamine)과 taurine을 단독 또는 혼합하여 carrageenan 유발 부종의 항염증 작용과 모세혈관 투과성 억제작용, 백혈구 유주 억제작용, 진통억제 정도를 측정하는 초산유발과 PBQ writhing의 억제작용, Randall-Selitto법을 측정하였고, 항염증의 반응 과정을 알아보기 위하여 COX-1, COX-2, O₂흡수 COX 억제효과를 측정하였다. 그 결과 항부종에서는 GA-HCl 250mg/kg 투여군과 taurine 250mg/kg을 투여한 군에서 각각 유발 3시간과 4시간에서, 이들 용량으로 혼합 투여한 군과 taurine 500mg/kg을 투여한 군에서는 4시간에서, GA-HCl 500mg/kg과 taurine 500mg/kg을 혼합 투여한 군에서는 2, 3, 4시간에서 유의적인 억제효과를 나타내었다. 모세혈관 투과성 억제실험에서는 taurine 500mg/kg을 투여한 군과 GA-HCl 500mg/kg과 taurine 500mg/kg을 혼합 투여한 군에서 유의적인 억제작용을 나타내었고, 백혈구 유주 억제작용은 단독 투여군보다 GA-HCl과 taurine을 각각 250mg/kg과 500mg/kg

씩 혼합하여 투여한 군에서 유의적인 억제작용을 나타내었다. 초산 유발과 PBQ 유발 writhing syndrome 억제작용에서는 GA-HCl 500mg/kg과 taurine 500mg/kg을 혼합하여 투여한 군에서 유의적인 억제효과와 Randall-Selitto법에서는 유의성은 없지만 약간의 진통작용이 있었다. COX-1억제효과는 그 작용이 약하였으나, GA-HCl과 taurine의 0.32, 1.6, 8, 40, 200µg/ml 농도에서 단독처리일 경우, GA-HCl은 40µg/ml 농도에서, taurine은 200µg/ml 농도에서 혼합용액으로 처리한 경우는 1.6µg/ml 농도에서 억제작용이 약간 있었다. 한편, COX-2의 억제작용도 약하였으나, 단독처리일 경우는 GA-HCl은 8µg/ml 농도에서, taurine은 1.6µg/ml 농도에서, 혼합용액인 경우는 0.32µg/ml 농도에서 억제작용이 약간 있었다. O₂흡수에 대한 COX 억제작용은 단독으로 처리하였을 경우, GA-HCl은 40µg/ml에서 taurine은 8µg/ml에서 약간의 억제작용을 나타내었다. 혼합용액의 경우는 500µg/ml보다 1,000µg/ml에서 조금 강한 억제작용을 나타내어 농도의존적인 작용을 나타내었다. 정상체온의 변화는 검액을 투여한 군에서 변화가 없었다.

감사의 글

본 논문은 1999학년도 대전대학교 학술연구비 지원으로 수행된 연구 결과이며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Tizard, I. R. : Immunology: An introduction inflammation. 2nd ed., Saunders college publishing, New York, p.423-441(1986)
2. Kim, C. J. : Pathophysiology(Diagnosis and Pharmacother). Seoul Pub., Seoul, p.47(1988)
3. Willoughby, D. A. : Human arthritis applied to animal models. Towards a better therapy. *Ann. Rheum. Dis.*, **34**, 471-478(1971)
4. Crolle, G. M. D. and Este, E. D. M. D. : Glucosamine Sulphate for the management of arthrosis : a controlled clinical investigation. *Current Medical Research and Opinion*, **7**, 104-109(1980)
5. Macario, J. T., Italo, C. R. and Angelo, A. B. : Oral glu-

- cosamine sulphate in the management of arthrosis : report on a multicentre open investigation in sportugal. *Pharmatherapeutica*, **3**, 157-168(1982)
6. Vaz, L. A. : Double-blind clinical evaluation of the relative efficacy of ibuprofen and glucosamine sulphate in the management of osteoarthritis of the knee in outpatients. *Current Medical Research and Opinion*, **8**, 145-149(1982)
 7. Setnikar, I., Palumbo, R., Canali, S. and Zanolo, G. : Pharmacokinetics of glucosamine in man. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **4**, 1109-1113(1993)
 8. Rechelt, A., Forster, K. K., Fischer, M., Rovati, L. C. and Setnikar, I. : Efficacy and safety of intramuscular glucosamine sulfate in osteoarthritis of the knee. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **44**, 75-80(1994)
 9. Setnikar, I. : Antireactive properties of "chondro protective" drugs. *Int. J. Tissue React.*, **14**, 253-261(1992)
 10. Kajimoto, O., Sakamoto, K., Takamori, T. and Kajitani, N. : The treatment effect of glucosamine-HCl on osteoarthritis (in japanese). *Japanes J. Clinical Nutrition*, **20**, 41-47(1998)
 11. Suguro, S. : The protective and improvement effect of glucosamine on osteoarthritis (in japanese). *Food Style*, **21**, 64-68(1998)
 12. Sakamoto, K. : A special quality and applied on glucosamine (in japanese). *Food Style*, **21**, 58-60(1997)
 13. Sakamoto, K. and Takamori, Y. : Glucosamine for osteoarthritis (in japanese). *Chitin. Chitosan Research*, **4**, 140-142(1998)
 14. Setnikar, I., Pacini, M. A. and Revel, L. : Antireactive properties of glucosamine sulfate. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **41**, 157-161(1991)
 15. Setnikar, I., Pacini, M. A. and Revel, L. : Antiarthritic effects of glucosamine sulfate studied in animal models. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.*, **41**, 542-545(1991)
 16. Chesney, R. W. : Taurine : Its biological role and clinical implications. *Adv. Pediatr.*, **32**, 1-42(1985)
 17. Oja, S. S. and Lahdesmaki, P. : Its taurine an inhibitory neurotransmitter?. *Med. Biol.*, **52**, 138-143(1974)
 18. Kuriyama, K., Muramatsu, M., Nakagawa, K. and Kakita, K. : Modulating role of taurine on release of neurotransmitters and calcium transport in excitable tissue. In *"Taurine and neurological disorders"* Barbeau, A. and Huxtable, R. J.(eds.), Raven press, New York, Vol. 201, pp.49-71(1978)
 19. Kuriyama, K. : Taurine as a neuromodulator. *Fed. Proc.*, **39**, 2680-2684(1980)
 20. Huxtable, R. and Bressler, R. : Effect of taurine on a muscle intracellular membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **323**, 573-583(1973)
 21. Stevens, M. J., Lattimer, S. A., Kamijo, M., Van-Huysen, C., Sima, A. A and Greene, D. A. : Osmotically-induced nerve taurine depletion and the compatible osmolyte hypothesis in experimental diabetic neuropathy in the rat. *Diabetologia*, **36**, 608-614(1993)
 22. Hayes, K. C., Carey, R. E. and Schmidt, S. Y. : Retinol degeneration associated with taurine deficiency in the cat. *Science*, **188**, 949-960(1975)
 23. Wright, C. E., Tallen, H. H., Lin, Y. Y. and Gaull, G. E. : Taurine : Biological update. *Ann. Rev. Biochem.*, **55**, 427-453(1986)
 24. Aruoma, O. I., Halliwell, B., Honey, B. W. and Butler, J. : The antioxidant action of taurine, hypotaurine and their metabolic precursors. *Biochem. J.*, **256**, 251-225 (1988)
 25. Gurujeyalakshmi, G., Lyer, S. N., Hollinger, M. A. and Giri, S. N. : Procollagen gene expression is down-regulated by taurine and niacin at the transcriptional level in the bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **277**, 1152-1157(1996)
 26. Maloughlim, D. M., Stapleton, P. P. and Bloomfield, F. J. : Influence of taurine and a substituted taurine on the respiratory burst pathway in the inflammatory responses. *Biochem. Soc. Trans.*, **19**, 73-78(1991)
 27. Schuller-Levis, G., Quinn, M. R., Wright, C. and Park, E. : Taurine protects against oxidant induced lung injury possible mechanisms of action. In *"Taurine in health and disease"* Huxtable, R.(ed.), Pleum Press, New York, pp.31-49(1994)
 28. Kim, S. M., Kim, H. K., Yang, W. B. and Kim, B. K. : Protective effect of taurine on indomethacin-induced gastric mucosal injury. In *"Taurine 2"* Huxtable, R. J., Azuma, J., Kuriyama, K., Nakagawa, M. and Baba, A. (eds.), Plenum press, New York, pp.147-155(1996)
 29. Stapleton, P. P., Molloy, A. M., Rogers, S. and Bloomfield, F. J. : Neutrophil taurine in psoriasis. *Ir. J. Med. Sci.*, **165**, 173-176(1996)
 30. Wang, Q., Giri, S. N., Hyde, D. M. and Nakashima, J. M. : Effects of taurine on bleomycin induced lung fibrosis in hamsters. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1990**, 330-338(1989)
 31. Stapleton, P. P., Mahon, T. M., Nowlan, P. and Bloomfield, F. J. : Effects of in-vivo administration of taurine and HEPES on the inflammatory response in rats. *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 745-750(1994)
 32. Winter, C. A., Risley, E. A. and Nuss, G. W. : Carrageenan induced edema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 544-547(1962)
 33. Whittle, B. A. : The use of change in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic analgesics. *Brit. J. Pharmacol.*, **22**, 246-253(1964)
 34. Ishikawa, H., Niinobe, C. and Tsurufuji, S. : Studies on the mode of action of anti-inflammatory agents. I. Quantitative analysis of anti-inflammatory effect by carboxymethyl cellulose pouch method. *Yakugaku Zasshi*, **88**, 1472-1477(1968)
 35. Tsurumi, K., Mibu, H., Okada, K., Hasegawa, J. and Fujimura, H. : Pharmacological investigations of the new anti-inflammatory agent. *Arzneim. Forsch.*, **36**, 1806-1809 (1986)
 36. Koster, R., Anderson, M. and Debeer, E. J. : Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, **18**, 412-418(1959)
 37. Parks, M. W. and Pickens, J. T. : Conditions influencing the inhibition, by analgesic drugs, of the response to intraperitoneal injections of phenylbenzoquinone in mice. *Brit. J. Pharmacol.*, **25**, 81-87(1965)
 38. Randall, L. O. and Selitto, J. J. : A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, **111**, 409-419(1971)
 39. Winter, C. A. and Flataker, L. : Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaw of rats and responds to analgesic drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **150**, 165-171 (1965)
 40. Swingle, K. F., Grant, T. J. and Kvan, D. C. : Auantial response in the Randall-Selitto assay. *Proc. Soc. Exp.*

- Biol. Med.* **137**, 536-538(1971)
41. Lee, D. H., Kang, S. S., Chang, I. M. and Mar, W. C. : Detection of antiinflammatory agents from natural products as inhibitors of cyclooxygenase I and II. *Natural Product Sciences*, **3**, 19-28(1997)
 42. Moroney, M. A., Alcaraz, M. J., Forder, R. A., Carey, F. and Houlst, J. R. S. : Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition by an anti-inflammatory flavonoid glycoside and related aglycone flavonoids. *J. Pharmacol.*, **40**, 787-792(1988)
 43. Najid, A., Simon, A., Cook, J., Chable-Rabinovitch, H., Delage, C., Chulia, A. J. and Rigaud, M. : Characterization of ursolic acid as a lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitor using macrophages, platelets and differentiated HL60 leukemic cells. *FEBS*, **3**, 213-217(1992)
 44. Arias, N. S., Keller, K. and Chadee, K. : Proinflammatory cytokines regulate cyclooxygenase-2 mRNA expression in human macrophage. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **17**, 582-589(1995)
 45. O'Sullivan, M. G., Huggins, E. M., Meade, E. A., Dewitt, D. L. and McCall, C. E. : Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 in aveolar macrophage. *Biochem. Res. Commun.*, **187**, 1123-1127(1992)
 46. Dewitt, D. L., El-Harith, E. A., Kraemer, S. A. and Andrew, M. J. : The aspirin and heme-binding sites of bovine and murine prostaglandin endoperoxide synthase. *J. Biol. Chem.*, **265**, 5192-5198(1990)
 47. Rosa, M. D., Giround, 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**, 1, 15-29(1971)
 48. Sedgwick, A. D. and Lees, P. : A comparison of air pouch sponge and pleurisy models of acute carrageenan inflammation in the rat. *Agents and Actions*, **8**, 439-446(1986)
 49. Moncada, S. and Vane, J. R. : Pharmacology and endogenous roles of prostaglandin endoperoxides, thromboxane A₂ and prostacyclin. *Pharmacol. Rev.*, **30**, 293-331(1979)
 50. Hla, T. and Neilson, K. : Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **89**, 7384-7388(1992)
 51. Klein, T., Nusimg, R. M., Pfeilschifter, J. and Ullrich, V. : Selective inhibition of cyclooxygenase 2. *Biochem. Pharmacol.*, **48**, 1605-1610(1994)
 52. Andrew, S., Tariq, M., William, W. C. and Mary, E. G. : Induction of cyclooxygenase 2 in human synovial microvessel endothelial cells by interleukin-1. *Arthritis Rheum.*, **37**, 495-503(1994)
 53. Herschman, H., Fletcher, B. and Kujubu, D. : A mitogen-inducible glucocorticoid-inhibited gene that encodes a second prostaglandin synthase/cyclooxygenase enzyme. *J. Lipid Med.*, **6**, 89-99(1993)
 54. Mede, E. A., Smith, W. L. and Dewitt, D. L. : Expression of the murine prostaglandin(PGH) synthase-1 and PGH synthase-2 isozymes in cos-1 cells. *J. Lipid Med.*, **6**, 119-129(1993)

(1999년 7월 24일 접수)