

## 섬오갈피나무의 근피성분, *Acanthoic acid*의 약리작용

이영순<sup>1</sup> · 이은방<sup>1\*</sup> · 김영호<sup>2</sup>

<sup>1</sup>서울대학교 천연물과학연구소, <sup>2</sup>충남대학교 약학대학

### Some Pharmacological Activities of Acanthoic Acid Isolated from *Acanthopanax koreanum* Root Bark

Young Soon LEE<sup>1</sup>, Eun Bang LEE<sup>1\*</sup> and Young Ho KIM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460

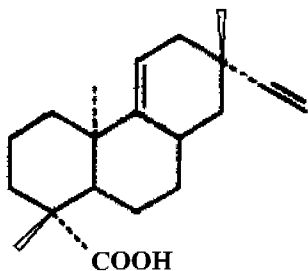
<sup>2</sup>College of pharmacy, Chungnam National University, Taejeon, 305-764, Korea

(Received September 3, 2001; accepted September 22, 2001)

**Abstract** – Some pharmacological activities of acanthoic acid, isolated from *Acanthopanax koreanum* root was investigated in animals. It is revealed that the compound had analgesic and anti-inflammatory activities without actions on central nervous system and showed inhibition of lipid peroxidation. The anti-inflammatory activity might be related to inhibition of prostaglandin E<sub>2</sub> synthesis in exudates of inflammation.

**Key words** □ Acanthoic acid, *Acanthopanax koreanum*, analgesic, anti-inflammatory, anti-oxidant action, PGE<sub>2</sub> synthesis inhibition.

Acanthoic acid는 섬오갈피나무에서 분리한 diterpenoid계의 신물질로서 그 화학구조는 (-)-pimara-9(11), 15-diene-19-oic acid(Kim 등, 1988a; Kim 등, 1988b) 이다.



Structure of acanthoic acid

섬오갈피나무(*Acanthopanax koreanum* Nakai)는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 낙엽관목으로서 제주도에 자생하는 식물이다. 한국에 자생하는 *Acanthopanax*속 식물은 약 12종류가 있으며(Yook 등, 1976) 전통적으로 강정, 강장 및 진통목적으로 사용되고 있으며, 민간에서 신경통, 류마티스, 고혈압, 중풍, 당뇨, 습진, 거담 등에 사용하여 왔다(Yook 등, 1976; Perry, 1980; Yook, 1981).

섬오갈피나무의 성분연구는 근피에서 lignan배당체인 syringaresinal diglycoside(Kim 등, 1985), acanthoside D,

syringoside(Hahn 등, 1985), ariensin, faltarindol, isopimara-9(11), 15-duene, 19-ol, eleutheroside E 및 B(Chung 및 Kim, 1986), faltarindol, methyl n-hexacosanoate, methyl linolate, coniferin(Kim 등, 1988a), pimaradiene diterpene(Kim 등, 1988b) 및 sumogaside(Kim 등, 1990)등이 보고되어 있고, 앞에서는 acanthodiol triglycoside(Chung 및 Hahn, 1991)가 보고되어 있다.

섬오갈피나무성분의 약리작용은 근피성분인 acanthoside D가 CCl<sub>4</sub>간독성에서 s-GOT 및 s-GPT 활성을 억제하고(Hahn 등, 1985), acanthoic acid가 interleukin-1과 TNF- $\alpha$ 의 생성억제, TNF- $\alpha$  유전자의 발현억제, collagen 합성억제 및 간독성의 억제 등에 대한 보고가 있다(Kang 등, 1996; Kang 등, 1998). 그러나 그밖의 약리 작용에 대하여는 찾아볼 수 없으므로 본 연구는 민간 응용과 관련해서 acanthoic acid의 진통소염작용과 기타 수종의 약리작용에 관하여 실험한 결과를 보고하는 것이다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료 및 시약

Acanthoic acid는 진보(Kim 등, 1988b)에 따라서 추출분리하여 시험물질로 하였다. 즉, 섬오갈피나무 근피 건조물(1.7 kg)을 메탄올로 3회 추출하여 제조된 건조엑스(200 g)를 ether와 물로 분획하고 여기서 얻은 ether분획(110 g)을

\*To whom correspondence should be addressed.

SiO<sub>2</sub> column chromatography(n-hexane : ethyl acetate = 20 : 1 ~ 5 : 1)를 실시하여 30 g의 acanthoic acid를 얻었다(순도 95% 이상). 시약 carrageenin은 Cofenhagen Pectin Factory (Denmark)의 제품이고 prostaglandin E<sub>2</sub>, Nordihydroguaiaretic acid, phenidone, Folin Ciocalteu시액 등은 Sigma Chem. Co.에서, pontamine sky blue는 Fluka사에서 구입하였고, 기타 시약과 약품은 시약급 및 약전품을 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 본 천연물과학연구소에서 사육한 체중 150~180 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 숫컷과 체중 22~26 g의 dd계 생쥐를 사용하였다. 동물실 온도는 22~25°C로 유지하고 12시간씩 점등 및 소등하였으며, 동물실에 1주일 이상 적응시켜 사용하였다. 사료는 삼양유지(주)의 고품사료를 사용하고 물은 충분히 공급하였다.

### 중추신경계에의 작용

#### Hexobarbital sodium 수면시간

Kato(1964)의 방법에 준하여 6마리의 생쥐를 1군으로 하여 시험물질을 경구투여한 1시간 후에 hexobarbital sodium 50 mg/kg을 복강내 주사하고 정향 반사가 소실된 때로부터 회복될 때까지의 시간을 수면시간으로 하였다. 대조약물은 chlorpromazine CI를 사용하였다.

#### 운동협조성

이 실험은 Dunham(1957) 등의 방법에 따라 실시하였다. 회전봉(Rota-Rod treadmill, Ugo Basile, Italy)에서 1분이상 떨어지지 않고 걷는 생쥐를 선발하여 7마리를 1군으로 하였고, 시험물질을 경구투여 1시간 후에 실험을 실시하여 1분 이내에 떨어지는 생쥐수를 관찰하였다. 실험은 3회 반복 실시하였고 대조약물로는 diphenyl hydantoin을 사용하였다.

### 진통작용

#### 초산법 writhing법

생쥐 6마리를 1군으로 하여 시험물질 100 및 300 mg/kg을 경구투여하고 30분 후에 Koster(1959)등의 방법에 따라, 0.7% 초산생리식염수액 0.1 ml/10 g을 복강내 주사하고 10분 후부터 10분간의 writhing증상의 발생 수를 측정하였다. 대조약물은 aspirin을 사용하였다.

#### 꼬리 압력자극법

생쥐 7마리를 1군으로 하여 Lee 및 Ryu의 방법(1984)에 따라서 실시하였다. 즉, 20% yeast-생리식염수액 0.1 ml를 생쥐 꼬리의 일정부위에 피하주사하고 1시간 후에 시험물질 200 및 400 mg/kg을 경구투여하였다. 경구투여 1시간, 2시간, 3시간후에 각각 programmed electrospigmomanometer(Narco Biosystems, Houston, U.S.A.)를 사용하여 꼬리의 염증 유발부위에 일정속도의 압력(20 mmHg/sec)을

가하여 동통반응역치(mmHg)를 측정하였다. 기록은 physiograph장치(Narco Biosystems)를 사용하였다. 이때에 대조약물로 aspirin 400 mg/kg을 사용하였다.

### 소염작용

#### 항부종작용

Winter(1962)등의 방법에 따라, carrageenin부종유발 억제실험을 실시하였다. 즉, 흰쥐의 뒷발에 1% carrageenin 0.1 ml를 피하주사하여 부종을 유발시키고 30분후 시험물질 300 및 600 mg/kg을 경구 투여하고 1시간 간격으로 4회에 걸쳐 부종의 용적을 plethysmometer(Ugo Basile, Varese, Italy)로 측정하였다. 부종증가율은 아래의 식으로 계산하였다. 1군 6마리의 흰쥐를 사용하였고 대조약물로 aspirin을 사용하였다.

$$\text{부종 증가율 (E)} = \frac{V_t - V_n}{V_n} \times 100$$

V<sub>t</sub>: 주사후 일정시간 후의 발의 용적

V<sub>n</sub>: 주사 직전 발의 용적

#### 모세혈관투과성 억제작용

Whittle(1964)의 방법에 준하여 검토하였다. 즉, 생쥐 8마리를 한 군으로 하여 시험물질 100 및 300 mg/kg을 경구 투여하고 60분후에 0.7% 초산생리식염수액을 체중 10 g당 0.1 ml씩 복강 주사하여 혈관투과성을 증대시키고 초산투여 30분후에 pontamine sky blue 4%액 0.1 ml를 꼬리 정맥에 주사하였다. 그 후 30분후에 복강액을 채취하여 spectrophotometer(Molecular Devices, USA)로 595 nm에서 pontamine sky blue양을 측정하였다. 대조약물로 aspirin을 사용하였다.

#### 단기 CMC Pouch에서의 백혈구 유주 억제작용

Ishikawa 및 Mori(1969)의 방법에 준하여 실시하였다. 즉, 흰쥐 5마리를 한 군으로하여 등부위의 털을 깎고 알코올소독을 한 후, 공기 8 ml를 피하주사하고 공기주입 24시간 후에, 멸균된 2% CMC-생리식염액 5 ml에 시험물질 10 또는 30 mg을 현탁하여 공기낭에 주입하였다. 시험물질 투여 6시간 후 낭속의 삼출액 일정량을 취하여 백혈구를 Tuerk액으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 세포수를 측정하였고 삼출액 중 단백질의 양도 Lowry등(1951)의 방법으로 정량하였다. 즉, 삼출액 일정량을 생리식염수액으로 희석한 뒤 원심분리하여 백혈구를 침전시킨 뒤, 상등액 일정량에 alkaline copper시약 5 ml를 가하고 실온에서 10분간 방치하였다. 방치 후 Folin시약 0.5 ml를 가하고 50°C에서 30분간 가열한후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조약물은 aspirin을 사용하였다.

#### 장기 CMC Pouch에서의 백혈구 유주억제작용

염증의 model은 Sedgwick등(1983)의 방법에 준하여, six-day air pouch 법을 사용하여 전술한 CMC air pouch

보다 낭내를 더욱 synovial cavity와 유사한 형태로 하였다. 즉, 흰쥐 6마리를 한 군으로 하여 등부위에 1일 20 ml의 공기를 피하주사한 후 3일과 5일에 각각 10 ml의 공기를 같은 부위에 주입하였다. 처음 공기주입 6일 후, 멸균생리 식염수에 용해한 1% carrageenin액 2 ml를 공기낭에 주사하고, 즉시 1% CMC 식염액 0.5 ml에 시험물질 10 또는 30 mg을 현탁시킨액을 주사하였다. 이때 대조약물로는 aspirin 30 mg을 피하주사하였다. 시험물질투여 6시간 후에 heparin 생리식염수액 1 ml로 공기낭을 세척하고 삼출액을 채취하였다. 삼출액의 양을 측정하고 삼출액을 200배 희석하여 백혈구를 Tuerk액으로 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 계수하고, 삼출액 중의 단백질의 양은 Lowry (1951) 등의 방법으로 정량하였다.

### Prostaglandin E<sub>2</sub> 생성억제작용

백혈구 유지억제작용 실험에서 얻은 삼출액중의 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)는 Green등(1978)의 방법으로 추출분리하여 Moncada등(1978)의 방법으로 정량하였다. 즉, 50% 에탄올로 희석한 삼출액을 formic acid로 pH 3.0으로 조정후 ethyl acetate로 3회 추출하여 50°C이하에서 감압농축하여 용매를 날려보냈다. 이 잔사를 메탄올에 용해하고 혼합용매(EtOAc : HAc : iso-octane : H<sub>2</sub>O = 11:2:5:10)를 이용하여 TLC를 실시하여 표준물질인 PGE<sub>2</sub>와 같은 위치의 PGE<sub>2</sub> 분획을 채취하였다. 채취한 분획을 Krebs bicarbonate용액 1 ml에 용해하여 흰쥐 위 절편(fundus)을 현수한 organ bath에 점적하고 수축반응을 physiograph로 기록하였다. 동시에 PGE<sub>2</sub> 표준물질을 사용하여 용량-반응곡선을 작성하여 삼출액중 함유된 PGE<sub>2</sub>의 양을 환산하였다.

### 지질과산화 억제작용

Ohkawa등(1979)의 방법에 준하여, 생쥐 간에서의 지질과산화 억제작용을 측정하였다. 즉, 생쥐의 간을 절취하여 1 g 당 10 ml의 생리식염수를 가하고 2분간 homogenize하였다. 이 homogenate 0.5 ml와 시험액 0.2 ml(1×10<sup>-3</sup>~1×10<sup>-5</sup>M/ml)를 혼합하여 37.5°C 항온조에서 5시간 반응시켰다. 이때 생성된 malondialdehyde를 thiobarbituric acid(TBA)시약 3.3 ml와 95°C 수욕상에서 1시간 가열 반응시켰다. 실온으로 식힌후 n-butanol 4 ml를 가하여 진탕 추출하고 원심 분리하여 butanol층을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시험액은 2% dimethyl sulfoxide 용액에 녹여 단계 희석하였으며 TBA시약은 2-thiobarbituric acid와 sodium dodecyl sulfate를 7.5% 초산원충액(pH 4.0)에 각각 0.3%, 0.4% 농도가 되도록 사용시 제조하였다. 이때 대조약물로는 NDGA 및 phenidone 1×10<sup>-4</sup>~1×10<sup>-5</sup>M/ml 농도를 사용하였다.

다음 수식에 따라 지질과산화 저해율을 계산하였다.

지질과산화 저해율(%) =

$$\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시험물질 투여군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 급성 독성

6마리의 생쥐를 1군으로 하여 실시하였다. 시험물질을 경구투여시 3000 mg/kg, 복강 투여시 1000 mg/kg에서 행동의 이상유무를 관찰하고 72시간까지의 사망수를 측정하였다.

### 통계학적 분석

모든 실험결과는 평균±표준오차로 표시하였고,  $\chi^2$ -test 및 unpaired t-test(별도의 표시가 없을때)를 사용하였으며 p<0.05 일때를 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결 과

### 중추신경계에의 작용

#### Hexobarbital sodium수면시간

시험물질 50, 150 및 450 mg/kg을 경구투여시에는 수면시간에 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 1). 이때 chlorpromazine 4 mg/kg 경구 투여군에서는 대조군에 비하여 약 2배의 수면시간을 보여 통계학적인 유의성을 나타냈다.

#### 운동협조성

시험물질 300 및 600 mg/kg을 경구 투여시 운동실조현상이 관찰되지 않았고, diphenylhydantoin 200 mg/kg을 경구 투여한 군에서는 대조군에 비하여 유의성있는 운동실조현상을 보였다(자료미제시). 위의 결과로써, 본 시험물질은 진정작용이나 근이완작용이 없음을 알 수 있다.

### 진통작용

#### 초산 writhing법

대조군은 10분간 약 21회의 writhing 증상을 나타내었고,

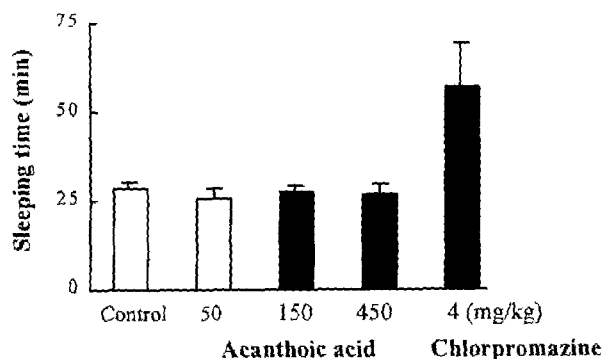


Fig. 1. Effects of acanthoic acid on the hexobarbital-Na induced sleeping time in mice. The values are means±S.E.M. \*p<0.05, significantly different from the control (n=6)

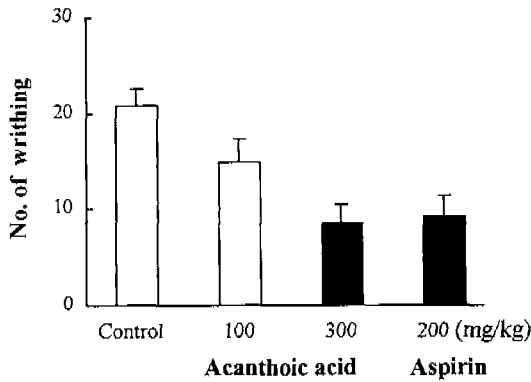


Fig. 2. Effects of acanthoic acid on acetic acid-induced writhing in mice. The values are means ± S.E.M.

\*p<0.01, significantly different from the control (n=7)

시험물질 100 mg/kg 투여군은 28%의 감소를 나타냈으나 통계학적인 유의성은 없었고, 300 mg/kg 투여군은 59%의 억제로써 대조군과 비교하여 유의성을 나타내었다(Fig. 2). Aspirin 200 mg/kg 투여군도 유의성을 나타내었다. 시험물질 300 mg/kg 경구 투여시, aspirin 200 mg 투여군과 유사한 억제작용을 나타냈다.

**꼬리 압력자극법**

본 실험 결과는 Table I에 표시한 바와 같다. 동통역치는 시험물질 200 mg/kg을 경구투여시 대조군과 비교하여 시험물질 투여후 1시간에서 34.8%, 2시간에서 27.3%, 3시간에서 25.1%의 증가를 나타내었다. 시험물질 400 mg/kg 투여군에서는 1시간에서 52.0%, 2시간에서 41.8%, 3시간에서 48.0%의 유의적인 증가를 나타내었다. 대조 약물인 aspirin 400 mg/kg 투여군에서는 1시간에서 41.2%, 2시간에서 51.6%, 3시간에서 70.7%의 증가를 나타내었다. 이로써, 시험물질이 염증부위에서의 동통역치를 증가시킴을 알 수 있으며, 시험물질 400 mg/kg 투여시에는 aspirin 400 mg/kg 투여시 보다 초기에는 강하였으나 2시간 후에는 약한 작용을 나타내었다.

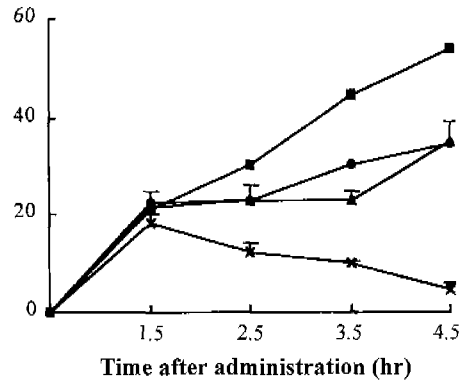


Fig. 3. Effects of acanthoic acid on carrageenin-induced edema in rat paw. ■; Control, ●; Acanthoic acid 300 mg/kg, ▲; Acanthoic acid 600 mg/kg, ×; Aspirin 400 mg/kg. The values are means ± S.E.M.

\*p<0.05, \*\*p<0.01, significantly different from the control (n=6).

**소염작용**

**항부종작용**

시험물질 300 mg/kg 투여군에서는 carrageenin 유발부종을 억제하지 못하였으나, 600 mg/kg 투여군에서는 측정 3.5 시간에서 23.8%의 억제효과로서 대조군에 비하여 유의성을 나타내었다. Aspirin 400 mg/kg 투여군은 보다 강력한 억제효과를 나타내었다(Fig. 3).

**모세혈관 투과성 억제작용**

시험물질 100 mg/kg 경구투여시, 복강액중에 삼출된 pontamine sky blue액의 농도가 대조군에 비하여 14.9% 억제되었고, 300 mg/kg 투여시 57.4%의 유의성있는 억제를 나타내었다. 또한, 대조약물인 aspirin 200 mg/kg 투여시에는 52.0% 억제되었다(Table II). 위의 결과에서 시험물질이 모세혈관 투과성 억제작용이 있으며 300 mg/kg 경구투여시 aspirin 200 mg/kg 투여시와 거의 유사한 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

Table I. Effects of acanthoic acid on the pain reaction threshold in inflamed mouse tail

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Pain threshold (mmHg ± S.E.M.)		
			1	2	3 (hr.)
Control	-	13	110.8 ± 3.85	97.6 ± 5.05	86.7 ± 4.09
Acanthoic acid	200	7	149.4 ± 9.52** (34.8)	124.2 ± 10.01* (27.3)	108.5 ± 5.34** (25.1)
	400	7	168.4 ± 14.73** (52.0)	138.4 ± 12.46** (41.8)	128.3 ± 13.02** (48.0)
Aspirin	400	7	156.5 ± 16.81* (41.2)	148.0 ± 12.86** (51.6)	148.0 ± 28.0* (70.7)

Figures in the parentheses indicate inhibition percentages.

\*p<0.05, \*\*p<0.01, significantly different from control group.

**Table II.** Effects of acanthoic acid on vascular permeability in mice

Treatment	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Pontamine sky blue (mg $\pm$ S.E.M.)	Inhibition %
Control	-	6	2.96 $\pm$ 0.323	-
Acanthoic acid	100	8	2.52 $\pm$ 0.312	14.9
	300	7	1.26 $\pm$ 0.177*	57.4
Aspirin	200	8	1.42 $\pm$ 0.083*	52.0

\* $p < 0.01$ , significantly different from control group.

#### 단기 CMC Pouch에서의 백혈구 유주 억제작용

본 실험 결과는 Table III에 표시하였다. CMC pouch에 시험물질 10 mg을 투여한 군에서는 대조군에 비하여 백혈구 유주 억제가 46.3% 였고, 30 mg 투여군에서는 73.5%의 강력한 억제를 나타내었다. 또한, 대조약물인 aspirin 30 mg 투여군에서는 50.0%의 억제를 보여서, 시험물질의 백혈구 유주 억제작용이 매우 강력함을 알 수 있었다. 반면에, pouch내의 단백질 삼출량은 본 시험물질 10 및 30 mg, 그리고 aspirin 30 mg의 용량에서 억제를 보이지 아니하였다.

#### 장기 CMC Pouch에서의 백혈구 유주억제작용

시험물질 10 mg을 투여한 군은 pouch내의 백혈구 유주가 32% 억제되었고, 30 mg 투여군에서 54.8% 억제되어, 모두 유의성있는 억제를 나타내었다. aspirin 30 mg 투여군에서는 25.0% 억제되었으나, 통계학적인 유의성은 없었다(Table IV). 따라서, 단기 CMC pouch의 경우와 같이, 본 시험물질 aspirin보다 백혈구 유주억제 작용이 강력함을 알 수 있었다. 삼출액의 양은 시험물질 30 mg의 투여시에 유의성있는 억제를 보였고 aspirin 투여군에서는 약간의 감소 경향을 나타내었으나, 유의성은 없었다. 또한 삼출액 중의 누출된 단백질의 양도 본 시험물질 및 aspirin 투여군에서 유의성 있는 억제를 보이지 아니하였다.

#### Prostaglandin E<sub>2</sub> 생성억제작용

PGE<sub>2</sub>는 흰쥐 위저 절편을 용량의존적으로 수축시켰으므로(Fig. 4), 이를 이용하여 정량하였다. Air-pouch 내에 PGE<sub>2</sub> 생성은 시험물질 10 mg 투여시 대조군보다 36.8%가 감소되었고, 30 mg 투여시에 86.2% 감소되었다. 반면, aspirin 30 mg 투여시 96.3% 억제되었다(Table V). 이로써 시험물질이 PGE<sub>2</sub> 생성을 억제시키며 aspirin보다

**Table III.** Effects of acanthoic acid on leucocyte emigration and protein exudation in CMC pouch of rats

Treatment	Dose (mg, s.c.)	No. of animals	No. of leucocytes (mm <sup>3</sup> of exudate)	Protein contents (mg/ml of exudate)
Control	-	5	12322 $\pm$ 2044	8.41 $\pm$ 0.373
Acanthoic acid	10	5	6613 $\pm$ 607* (46.3)	9.50 $\pm$ 1.166
	30	5	3267 $\pm$ 482* (73.5)	10.07 $\pm$ 0.899
Aspirin	30	5	6163 $\pm$ 574* (50.0)	9.51 $\pm$ 0.263

The values represent means  $\pm$  S.E.M.

Figures in the parentheses indicate inhibition percentages.

\* $p < 0.01$ , significantly different from control group.

**Table IV.** Effects of acanthoic acid on leucocyte emigration and protein exudation in six-day air pouch

Treatment	Dose (mg, s.c.)	No. of animals	Amount of pouch fluid (ml)	No. of leucocytes		Protein contents	
				mm <sup>3</sup> of exudate	total ( $\times 10^3$ )	mg/ml	mg/total ml
Control	-	6	2.38 $\pm$ 0.80	45800 $\pm$ 11050	66195 $\pm$ 6817	12.8 $\pm$ 3.89	23.1 $\pm$ 4.31
Acanthoic acid	10	6	2.40 $\pm$ 0.20	25300 $\pm$ 2500 (44.8)	45000 $\pm$ 4213* (32.0)	11.5 $\pm$ 4.0 (10.2)	25.0 $\pm$ 3.51
	30	6	2.81 $\pm$ 0.45	12275 $\pm$ 1787* (73.2)	29933 $\pm$ 4214** (54.8)	9.7 $\pm$ 1.65 (24.2)	24.3 $\pm$ 6.67
Aspirin	30	6	1.96 $\pm$ 0.14 (17.6)	41180 $\pm$ 4915 (10.1)	49647 $\pm$ 3727 (25.0)	9.3 $\pm$ 0.47 (27.3)	17.7 $\pm$ 1.36 (23.4)

The values represent means  $\pm$  S.E.M.

Figures in the parentheses indicate inhibition percentages.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , significantly different from control group.

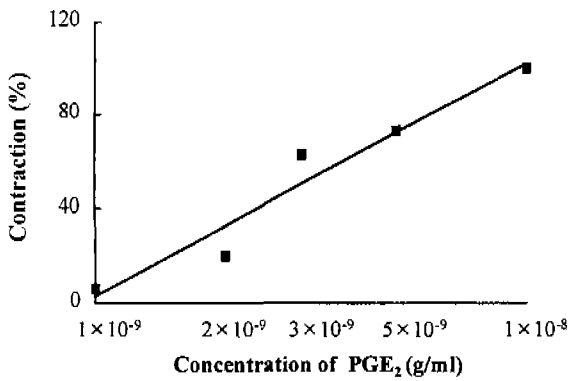


Fig. 4. Cumulative dose-response line of prostaglandin E<sub>2</sub> on rat fundus strips. Y=-98.9X+3.42.

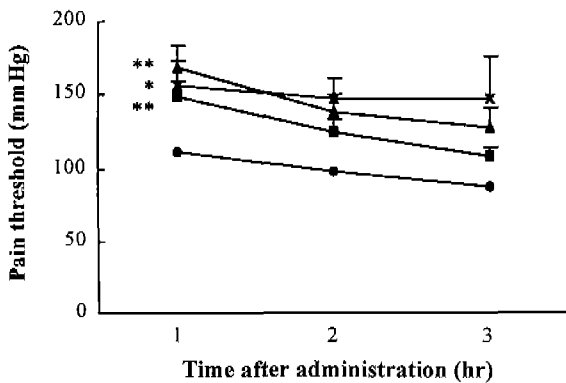


Fig. 5. Effects of acanthoic acid and aspirin on the pain reaction threshold in inflamed mouse tail. ●; Control, ■; Acanthoic acid 200 mg/kg, ▲; Acanthoic acid 400 mg/kg, ×; Aspirin 400 mg/kg. The values are means ± S.E.M. \*p<0.05, \*\*p<0.01, significantly different from the control (n=7)

는 약하나 유의성있게 PGE<sub>2</sub> 생성을 억제시킴을 알 수 있었다.

지질 과산화에 미치는 영향

ID<sub>50</sub> 농도는 시험물질이 3.98×10<sup>-4</sup>M, NDGA가 4.68×10<sup>-5</sup>M, phenidone이 10<sup>-4</sup>M로서, 시험물질의 항산화작용은

Table VI. Effects of acanthoic acid, NDGA, and phenidone on lipid peroxidation

Treatment	Concentration (M)	Inhibition %	ID <sub>50</sub> (M)
Acanthoic acid	1 × 10 <sup>-5</sup>	39.0	3.98 × 10 <sup>-4</sup>
	1 × 10 <sup>-4</sup>	45.7	
	1 × 10 <sup>-3</sup>	52.8	
NDGA	1 × 10 <sup>-5</sup>	31.3	4.68 × 10 <sup>-5</sup>
	1 × 10 <sup>-4</sup>	59.0	
Phenidone	1 × 10 <sup>-5</sup>	26.2	1 × 10 <sup>-4</sup>
	1 × 10 <sup>-4</sup>	50.0	

phenidone의 약1/4, NDGA의 약1/10의 작용을 나타내었다 (Table VI).

급성독성

시험물질 3000 mg/kg을 생쥐에 경구 투여시 6마리 중에서 1마리도 사망하지 않았으며 1000 mg/kg을 복강내 투여 시에도 6마리중 1마리도 사망하지 아니하였으므로, 시험물질의 급성독성은 매우 약한것이다.

고 찰

본 결과는 acanthoic acid의 중추신경계에의 작용, 진통소염작용 및 항산화작용에 관한 것이다. 본 시험물질은 hexobarbital수면작용 및 rotarod시험에서 영향을 미치지 않으므로 중추신경계에 미치는 작용은 적은 것으로 생각된다. 그러나, 초산유발writhing 및 생쥐꼬리 압력유발 동통에 대한 억제작용과 카라게닌부종 억제, 색소투과성억제, 및 백혈구유주 억제작용이 나타난 결과 진통소염작용이 있음을 알 수 있었다. 다만, 본 시험물질은 경구투여시에 aspirin에 비하여 대체적으로 약하거나 유사한 작용을 나타냈다. 백혈구유주 억제작용에서는 본 시험물질이 aspirin보다 약한 작용을 나타내고 PGE<sub>2</sub> 유리억제작용은 유사한 것으로 나타났

Table V. Effects of acanthoic acid on prostaglandin E<sub>2</sub> concentrations in six-day air pouch

Treatment	Dose (mg, s.c.)	No. of animals	Concentration of PGE <sub>2</sub> (ngS.E.M.)	
			ml of exudate	Total exudate
Control	-	6	14.95 ± 0.500	56.31 ± 1.930
Acanthoic acid	10	6	9.36 ± 0.30* (37.4)	35.60 ± 0.32* (36.8)
	30	6	2.07 ± 0.40* (86.2)	7.75 ± 2.07* (86.2)
Aspirin	30	6	1.03 ± 0.73* (93.1)	2.06 ± 1.46* (96.3)

Figures in parentheses indicate inhibition percentages. \*p<0.01, significantly different from control group.

다. Prostaglandin류의 함량은 일반적으로 면역법으로 측정 하지만, 본 연구에서는 흰쥐 fundus를 이용한 bioassay법으로 실시하였다. 즉, Takeuchi등(1980)은 이 방법으로 PGE<sub>2</sub>와 F<sub>2α</sub>를 용량의존적으로 정량하였으며 PGE<sub>2</sub>는 0.05 ng 이상, PGF<sub>2α</sub>는 0.25 ng 이상일 때 측정이 가능하였다. 따라서 PGE<sub>2</sub>와 PGF<sub>2α</sub>가 혼입되어 있을 때는 이들을 분리하여야 한다. 이 실험에서는 PGE<sub>2</sub>를 TLC로 분리하였다. Sedgwick와 Lees(1986)는 CMC Pouch내에는 PGF<sub>2α</sub>가 존재하지 않고 PGE<sub>2</sub>와 6-oxo-F<sub>2α</sub>가 합성된다고 하였다. 본 시험물질은 지질 과산화 억제작용도 있으나 NDGA나 phenidone보다는 매우 약한 작용이다. Bragt등(1979)은 간장에서 항산화작용의 억제가 소염작용과 관계있다고 한 바 있으나, 현재로서는 보다 많은 확인이 필요하다고 본다. 오가피근피에서는 서론에서 기술한 바와 같이 신경통, 류마티스에 사용되어 왔다. 이러한 효능은 acanthoic acid의 소염진통작용과 관련성이 있다고는 생각되나, 전적으로 이 성분에만 관련되어 있다고는 할 수 없다. 그 밖의 많은 성분에 대한 진통소염작용이 밝혀져야 하기 때문이다.

본 연구의 결과로써, acanthoic acid는 중추신경계에 작용이 없는 용량에서 진통소염작용이 있으며 이 작용은 PGE<sub>2</sub> 합성 억제와 관련이 있다고 사료되는 바이다.

### 참고문헌

- Bragt, P. C., Sehenkelaars, E. P. and Bonta, I. W. (1979). Dissociation between prostaglandin and malondialdehyde formation in exudate and increased levels of malondialdehyde in plasma and liver during granulomatous inflammation in the rat. *Prostaglandins Med.* **2**, 51-61.
- Chung, B. S. and Kim, Y. H. (1986). Studies on the constituents of *Acanthopanax koreanum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **17**, 62-66.
- Chung, J. Y. and Hahn, D. R. (1991). Constituents of *Acanthopanax koreanum* leaves. *Yakhak Hoeji.* **35**, 240-244.
- Dunham, N. W., Miya, T. S. and Edwards, C. D. (1957). Pharmacological activity of a series of basic esters of mono- and di-alkyl malonic acid. *J. Am. Pharm. Assoc.* **46**, 208-210.
- Green, K., Hamberg, M., Samuelsson, B. and Frolich, J. C. (1978). Extraction and chromatographic procedures for purification of prostaglandins, thromboxanes, prostacyclin, and their metabolites. *Adv. PG. Tx. Res.* **5**, 15-38.
- Green, K., and samuelesson, B. (1964). Prostaglandins and related factors: XIX thin-layer chromatography of prostaglandins. *J. Lipid. Res.* **5**, 117-120.
- Hahn, D. R., Kim, C. J. and Kim, J. H. (1985). A study on the chemical constituents of *Acanthopanax koreanum* and its pharmacobiological activities. *Yakhak Hoeji.* **29**, 357-361.
- Ishikawa, H. and Mori, Y. (1969). The characteristic feature of glucocorticoid after local application with reference to leucocyte migration and protein exudation. *Eur. J. Pharmacol.* **7**, 201-205.
- Kang, H. S., Kim, Y. H., Lee, C. S., Lee, J. J., Choi, I. and Pyun, K. H. (1996). Suppression of interleukin-1 and tumor necrosis factor production by acanthoic acid, (-)-pimar-9(11), 15-diene-19-oic acid, and its antifibrotic effects in vivo. *Cell. Immunol.* **170**, 212-221.
- Kang, H. S., Song, H. K., Lee, J. J., Pyun, K. H. and Choi, I. (1998). Effect of acanthoic acid on TNF-alpha gene express haptoglobin synthesis. *Mediators Inflamm.* **7**, 257-259.
- Kato, R., Chiesara, E. and Vassanelli, P. (1964). Further studies on the inhibition and stimulation of microsomal drug-metabolizing enzymes of rat liver by various compounds. *Biochem. Pharmacol.* **13**, 69-73.
- Kim, Y. H., Chung, B. S. and Kim, H. J. (1985). Studies on the constituents of *Acanthopanax koreanum* Nakai(I). *Kor. J. Pharmacogn.* **16**, 151-154.
- Kim, Y. H., Chung, B. S., Ko, Y. S. and Han, H. J. (1988). Studies on the chemical constituents of *Acanthopanax koreanum*. *Arch. Pharm. Res.* **11**, 159-162.
- Kim, Y. H., Chung, B. S. and Sankawa, U. (1988). Pimaradine diterpenes from *Acanthopanax koreanum*. *J. Natural Products.* **51**, 1080-1082.
- Kim, Y. H., Ryu, J. H. and Chung, B. S. (1990). Diterpene glycoside from *Acanthopanax koreanum*. *Kor. J. Pharmacogn.* **21**, 49-51.
- Koster, R., Anderson, M. and De Beer, E. J. (1959). Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.* **18**, 412-415.
- Lee, E. B. and Ryu, M. S. (1984). A new methods evaluating analgesic activity by mouse tail pressure. *The 33rd Annual Meeting of Pharmaceut. Soc. Korea.* pp. 91.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. W. and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Moncada, S., Ferreira, S. H. and Vane, J. R. (1978). Bioassay of prostaglandins and biologically active substances derived from arachidonic acid. *Adv. PG. Tx. Res.* **5**, 211-236.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
- Perry, L. M. (1980). *Medicinal Plants of Far East and Southeast Asia*. The MIT Press, Cambridge. pp. 41.
- Sedgwick, A. D. and Lees, P. (1986). Studies of eicosanoid production in the air pouch model of synovial inflammation. *Agents Actions.* **18**, 429-438.
- Sedgwick, A. D., Sin, Y. M., Edwards, J. C. W. and Willoughby, D. A. (1983). Increased inflammatory reactivity in newly formed lining tissue. *J. Path.* **141**, 483-495.
- Whittle, B. A. (1964). The use changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and nonnarcotic analgesics. *Brit. J. Pharmacol.* **22**, 246-253.
- Winter, C. A., Risley, E. A. and Nuss, G. W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**, 544-547.
- Yook, C. S., Lee, D. H. and Seo, Y. K. (1976). A new form of *Acanthopanax* species(I). *Kor. J. Pharmacogn.* **7**, 179-190.
- Yook, C. S. (1981). *Medicinal Plants of Korea*. Jinmyeong Publ. Co., Seoul.