

## 급성 및 만성 염증에서 생약복합제 GCSB-5의 항염증 작용에 관한 연구

김성화 · 이찬호 · 이준석 · 조강훈 · 김선옥<sup>1</sup> · 조순현<sup>2</sup> · 조형권<sup>2</sup> · 이선미\*  
성균관대학교 약학대학, <sup>1</sup>(주)바이오포젠, <sup>2</sup>한풍제약

## Anti-Inflammatory Activities of a Herbal Preparation GCSB-5 on Acute and Chronic Inflammation

Sung-Hwa Kim, Chan-Ho Lee, Jun-Seok Lee, Kang-Hoon Cho, Sun-Ok Kim<sup>1</sup>,  
Soon-Hyun Cho<sup>2</sup>, Hyoung-Kwon Cho<sup>2</sup>, and Sun-Mee Lee\*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea

<sup>1</sup>Biosapogen Co., Ltd., Seongnam 462-120, Korea

<sup>2</sup>Hanpoong Pharmaceutical Co., Ltd., Jeonju 561-841, Korea

**Abstract** – GCSB-5 is a purified extract from a mixture of 6 Oriental herbs (*Ledebouriellae Radix*, *Achyranthis Radix*, *Acanthopanax Cortex*, *Cibotii Rhizoma*, *Glycine Semen*, and *Eucommiae Cortex*) that have been widely used for the treatment of inflammatory diseases in the East Asia. The aim of this study was to investigate the anti-inflammatory potential of GCSB-5. The animals used in this study were administered either vehicle or GCSB-5 (30, 100, 300, and 600 mg/kg) orally. The GCSB-5 significantly inhibited the increase of acetic acid-induced vascular permeability (30.9-34.2% inhibition at 30-300 mg/kg). The swelling of the rat's hind paw induced by carrageenan was significantly inhibited by GCSB-5 in doses of 100, 300, and 600 mg/kg. Maximal inhibition (50.9%) was obtained with GCSB-5 at dose of 300 mg/kg. However, it did not have any anti-inflammatory action in the rheumatoid arthritis induced by Freund's complete adjuvant or in the granuloma induced by carrageenan. Our finding suggest that GCSB-5 has a anti-inflammatory activity.

**Key words** – adjuvant, arthritis, carrageenan, GCSB-5, granuloma

관절염이란 연화, 동통이 2주 이상 지속되는 부종과 발적 등의 증상을 특징으로 하며 전세계적으로 7천만명 이상이 겪고 있는 질환이다. 이러한 관절염은 크게 골관절염과 류마티스 관절염으로 분류할 수 있다. 흔히 퇴행성 관절 질환이라 불리는 골관절염은 인류가 겪고 있는 만성질환의 대표적 질환으로 관절 연골의 퇴화가 특징이며 손상된 연골 수복과 연골하 골조직의 재구성 또한 동반된다. 또한 골관절염은 흔히 비염증 반응으로 알려져 있지만, 병의 진행시 중증도의 염증반응이 일어난다.<sup>1)</sup> 류마티스 관절염은 전신적 염증반응이며, 관절을 중심으로 전신에 분포되어 있는 결합 조직에 대한 질환이므로 발병원인의 규명이 어려운 난치성 질환으로 알려져 있다.

관절염 치료제로 가장 널리 사용되고 있는 비스테로이드

성 소염제는 주 치료작용 외에 위궤양과 같은 심각한 부작용들이 빈번히 나타나므로<sup>2,3)</sup> 임상적으로 해결해야 할 큰 문제로 남아있다. 현재 사용되고 있는 약물 중 많은 수가 천연물 유래 약물로서 이들은 이미 고래로부터 약효가 입증되고 특히 화학 약물에 비해 부작용이 적어 많은 관심이 모아지고 있으나 이에 비해 과학적 근거는 매우 미흡한 실정이다.

GCSB-5는 예로부터 골다공증, 관절염, 디스크 등의 각종 골질환 치료제로 사용되는 추나약물(양근탕, 청파전 등 자생한방병원 고유처방)을 바탕으로 한 방풍(*Ledebouriellae Radix*), 우슬(*Achyranthis Radix*), 오가피(*Acanthopanax Cortex*), 구척(*Cibotii Rhizoma*), 흑두(*Glycine Semen*) 및 두충(*Eucommiae Cortex*)의 생약복합제이다. 최근 들어 이들 성분 중 방풍의 진통 및 항염증 작용,<sup>4)</sup> 우슬의 항염증 작용<sup>5)</sup> 및 두충의 진통효과<sup>6)</sup>가 보고되어지고 있다. 또한 중약

\*교신저자(E-mail) : sunmee@skku.edu  
(FAX) : 031-290-7732

Table I. Composition of GCSB-5

Crude Medicinal Plants	Ratio (g)
Root of <i>Saposhnikovia divaricata</i> Schiskin	2.143
Root of <i>Achyranthes bidentata</i> Blume	2.143
Cortex of <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seeman	2.143
Rhizome of <i>Cibotium barometz</i> J. Smith	1.429
Semen of <i>Glycine max</i> Merrill	1.429
Cortex of <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	0.174

GCSB-5 was prepared by blending the above medicinal plants at the ratio indicated in the table.

대사전의 기록에 의하면 오가피는 항염증 작용<sup>7)</sup>이 있으며, 구척은 뼈를 튼튼하게 하고,<sup>8)</sup> 흑두는 황달, 부종에 효능이 있다고 한다.<sup>9)</sup>

따라서 본 연구에서는 상기 각 약물의 혼합제제인 GCSB-5가 항염증 작용에 있어 상가적 치료 효과가 있을 것으로 예상되어 각종 급만성 염증 모델에 대한 GCSB-5의 항염증 작용에 대해 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

**시험물질** - 본 실험에 사용한 GCSB-5는 6가지 생약(구척, 방풍, 우슬, 오가피, 두충, 흑두)을 혼합하여 열수 추출 후 한외여과하여 분자량 10,000 이하인 분획을 얻었고, 이 분획물을 저온 농축한 분말을 한풍제약으로부터 제공 받았다(Table I).

**시약** - Type IV lambda carrageenan, Freund's complete adjuvant, Evans blue, methylcellulose, diclofenac은 Sigma 사(St. Louis, MO, U.S.A.)에서 구입하였으며, 기타 일반시약들은 특급 시약을 구입하여 사용하였다.

**실험동물 및 사육조건** - 실험동물은 (주)현대바이오로부터 140-200 g Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐 및 20-25 g ICR계 웅성 생쥐를 공급 받아 온도  $23 \pm 1^\circ\text{C}$ , 상대습도  $55 \pm 15\%$  및 300-500 Lux의 조도로 12시간 간격으로 명암이 조절되는 성균관대학교 약학대학 동물사육실에서 일주일 이상 순화시킨 후 육안적 증상을 관찰하여 정상적인 동물만을 실험에 사용하였으며, 실험동물용 고품 사료 및 물은 자유롭게 섭취시켰다.

**시험물질의 투여** - 시험물질은 각각 30, 100, 300 및 600 mg/kg b. wt.의 용량으로 생리식염수에 녹여 경구투여 바늘(sonde)을 사용하여 경구로 강제 투여하였다. 투여 부피는 투여 당일에 측정된 체중에 따라 산출하였고, 대조군은 생리식염수만 투여하였다. 양성대조약물인 diclofenac은 5 및 25 mg/kg b. wt.의 용량으로 생리식염수에 녹여 경구로 투여하였다.

**혈관투과성시험** - Whittle<sup>10)</sup>의 방법에 따라, 시험 전 12시간을 절식시킨 생쥐에 시험물질을 경구로 투여하였다. 투

여 30분 후 2.5% Evans blue solution(0.1 ml/10 g b. wt.)을 꼬리 정맥을 통하여 투여하고, 20분 후 0.6% acetic acid-saline 용액을 0.1 ml/10 g b. wt.의 용량으로 복강 내 주사하여 혈관 투과성의 향진을 유도하였다. 20분 후, 생쥐를 경추 탈골로 치사시킨 후 5 ml의 생리식염수를 복강에 가하고 복부를 가볍게 흔들어준 후 세척액을 취하였다. 세척액을 2,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 spectrophotometer(UV-1601, Simadzu, Japan)를 사용하여 630 nm에서 흡광도를 측정함으로써 복강 내로 유출된 Evans blue의 양을 산출하였다. 양성대조약물로는 diclofenac(25 mg/kg b. wt.)을 사용하였다.

**Carrageenan에 의한 족부종법** - 실험 전 16시간을 절식시킨 흰쥐를 사용하여 기염제인 1% type IV lambda carrageenan-saline 용액 0.1 ml를 흰쥐의 오른쪽 뒷발의 족저 중심부 피하에 주사하여 부종을 유발하였다.<sup>11)</sup> 기염제 투여 후 0.5, 1, 2, 4 및 6시간에 plethysmometer(Ugo Basile, Italy)로 발의 용적을 측정하여, 기염제 투여 전의 발의 용적과 비교하여 부종 증가율을 산출하였다. 또한 대조군의 부종증가율과 시험물질 투여군의 부종증가율을 비교하여 부종억제율을 산출하였다. 시험물질은 단회 투여의 경우 기염제 주사 30분 전, 반복 투여의 경우 실험 전 2주간 1일 1회 동일 시간대에 경구 투여하였다. 부종 정도는 아래의 수식에 따라 부종증가율 및 부종억제율을 측정하였다. 양성대조약물로는 diclofenac(5 및 25 mg/kg b. wt.)을 사용하였다.

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

$V_t$  = 매 시간대별 족 부피

$V_n$  = 0시간의 족 부피(carrageenan 주사 직후)

$$\text{부종억제율}(\%) = (\text{대조군의 부종증가율} - \text{약물투여군의 부종증가율}) / \text{대조군의 부종증가율} \times 100$$

**Carrageenan에 의한 육아종남법** - Tsurufuji 등<sup>12)</sup>의 방법에 따라, 흰쥐의 등 피하에 공기 8 ml를 주입하여 반구형의 공기주머니를 만들고, 24시간 후 2% carrageenan-saline 용액 4 ml를 주머니 속에 주입하였다. 8일째 육아낭을 절개하여 냉내 삼출액의 부피와 육아의 습중량(wet weight)을 측정하여 대조군과 비교하였다. 시험물질은 1일째부터 경구로 7일간 1일 1회 동일 시간대에 투여하였으며, 양성대조약물로는 diclofenac(5 mg/kg b. wt.)을 사용하였다.

**Adjuvant에 의한 관절염법** - Winder 등<sup>13)</sup>의 방법에 따라, 흰쥐를 사용하여 *Mycobacterium tuberculosis*가 1 mg/ml의 농도로 함유된 Freund's complete adjuvant를 흰쥐의 오른쪽 뒷발 족저 중심부에 0.1 ml/paw의 용량으로 피내주사하였다. 시험물질은 adjuvant 투여 후 20일 동안 1일 1회 동일 시간대에 경구로 투여하고, 2일에 한번씩 족 부종 정도를 plethysmometer로 측정하여 carrageenan에 의한 족부종

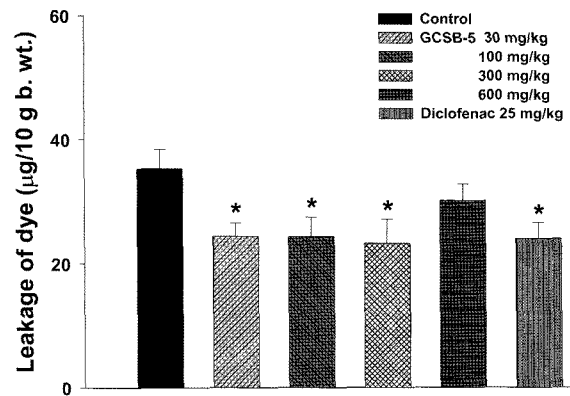
법과 동일하게 부종증가를 및 부종억제율을 산출하여 대조군과 비교하였다. 양성대조약물로는 diclofenac(5 mg/kg b. wt.)을 사용하였다.

**단회투여 독성시험** - 본 시험은 식품의약품안전청 고시 제 1999-61호 (1999년 12월 22일) '의약품등의 독성시험기준'과 식품의약품안전청 고시 제 2000-63호 (2000년 12월 11일) '비임상시험관리기준'을 참조하여 시행하였다. 실험동물로는 체중 150-175 g의 웅성 SD계 흰쥐와 체중 110-135 g의 자성 SD계 흰쥐를 사용하였다. 순화기간 중 건강하다고 판정되는 동물에 대하여 체중을 측정하였으며 평균체중 및 표준편차를 계산하여 군간 균등하게 동물을 배치하였다. 검체는 0 및 2 g/kg의 용량으로 암수 각각 10마리씩 단회 경구투여 하여 14일 동안 사망률, 일반소견, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다. 경구투여 바늘을 사용하여 검체를 투여하였으며 투여 용량은 투여 직전 측정된 체중에 따라 산출하였다. 시험 제 14일에 관찰을 마친 후 모든 생존 동물을 에테르로 마취시켜 치사시킨 다음 육안으로 외관 및 내부장기의 이상 유무를 관찰하였다.

**통계처리** - 모든 측정 결과는 평균 ± 표준 오차로 나타내었으며, 실험군간의 차이는 Dunnett's *t* test를 사용하여 통계적 유의성을 나타내었고,  $p < 0.05$ 인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

**결 과**

**GCSB-5가 초산으로 유도된 혈관 투과성 향진에 미치는 영향** - GCSB-5 투여 후, acetic acid-saline 용액을 복강 내 투여하여 혈관 투과성을 향진시킨 후 복강 내로 삼출된 Evans blue의 함량을 측정된 결과는 다음과 같다(Fig. 1). 생



**Fig. 1.** Effect of GCSB-5 on vascular permeability in acetic acid-induced mice. Each value represents the mean ± S.E.M. from 12-16 mice per group. \*Significantly different ( $p < 0.05$ ) from control group.

리식염수만을 투여한 대조군에서 복강 내로 유출된 Evans blue의 양은 35.3 µg/10 g b. wt.이었다. GCSB-5의 30, 100 및 300 mg/kg 용량 투여군에서는 복강 내 유출된 Evans blue의 양이 각각 24.4, 24.3 및 23.2 mg/10 g b. wt.으로 대조군과 비교하여 유의적으로 감소하였으나, 고용량인 GCSB-5 600 mg/kg 투여군은 대조군과 별다른 차이를 나타내지 않았다. 양성대조약물인 diclofenac 투여군은 24.0 mg/10 g b. wt.로 대조군에 비해 Evans blue의 삼출량을 유의적으로 억제하였다.

**GCSB-5 단회 및 2주투여가 carrageenan으로 유도된 흰쥐의 족부종에 미치는 영향** - GCSB-5의 용량별 투여 30 분 후, carrageenan으로 족부종을 유발시킨 흰쥐의 족부종 변화를 관찰한 결과는 다음과 같다(Table II). 생리식염수만

**Table II.** Effect of single administration of GCSB-5 on carrageenan-induced hind paw edema in rat

Group	Dose (mg/kg)	Increased percent of paw volume (%)				
		0.5	1	2	4	6 (hr)
Control	0	18.6 ± 1.4	26.1 ± 1.9	40.5 ± 3.2	84.1 ± 3.2	73.9 ± 3.0
GCSB-5	30	19.8 ± 2.2	23.1 ± 4.9	26.6 ± 5.6	72.2 ± 6.0	63.8 ± 3.7
		(-6.3)	(11.6)	(34.5)	(14.1)	(13.6)
	100	14.8 ± 2.4	23.6 ± 1.7	31.6 ± 6.1	84.0 ± 4.3	68.9 ± 2.0
		(20.6)	(9.5)	(22.0)	(0.1)	(6.8)
	300	12.4 ± 1.2*	18.6 ± 2.0	32.8 ± 3.2	83.9 ± 4.2	69.3 ± 3.5
(33.5)		(28.8)	(19.1)	(0.2)	(6.3)	
600	17.7 ± 2.3	24.6 ± 3.1	43.2 ± 7.1	83.7 ± 4.8	69.0 ± 3.3	
	(4.8)	(5.9)	(-6.5)	(0.4)	(6.6)	
Diclofenac	25	9.6 ± 1.6**	13.6 ± 2.6**	17.7 ± 3.1**	37.2 ± 5.9**	34.9 ± 2.8**
		(48.7)	(48.0)	(56.3)	(55.7)	(52.8)

The values in parentheses indicate percent inhibition. Each value represents mean ± S.E.M. from 8-12 rats per group. \*\*\*Significantly different ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) from control group.

을 투여한 대조군의 경우, carrageenan 투여에 의해 발의 부피는 1시간 후에 26.1%의 증가율을 나타냈으며, 이후 지속적으로 증가하여 투여 4시간 후에는 84.1%까지 증가하였다. GCSB-5 300 mg/kg 용량 투여군은 부종 유발 0.5시간에서 유의적인 부종 억제를 나타내었을 뿐, 30, 100 및 600 mg/kg 용량 투여군에서는 전 시험시간에 걸쳐 대조군과 차이가 없었다. 양성대조약물인 diclofenac 투여군은 전 시간대에 걸쳐 대조군에 비해 유의성 있는 부종 억제를 나타내었다. GCSB-5를 용량별로 2주간 투여한 흰쥐에서 족부중변화를 관찰한 결과는 다음과 같다(Table III). 생리식염수만을 투여한 대조군의 경우, carrageenan 투여에 의해 흰쥐의 족 부피는 1시간 후에 31.0%의 증가율을 나타냈으며, 이후 지속적으로 증가하여 투여 4시간에는 78.3%까지 증가하였다. GCSB-5 300 mg/kg 용량 투여군은 부종 유발 0.5시간에서 대조군 부종 증가율인 27.0%에 비하여 14.2%의 부종 증가율을 보여 현저하게 부종을 억제하였고, 이러한 부종의 억제는 carrageenan 투여 후 1, 2, 4 및 6시간에서도 지속적으로 유지되었다. 또한 100 mg/kg 용량 투여군에서도 2시간을 제외한 전 시험시간에 걸쳐 유의적인 부종 억제를 나

타내었으며, 600 mg/kg 용량 투여군은 4시간과 6시간에서만 유의적인 부종 억제를 나타내었다. 그러나 저용량인 30 mg/kg 용량 투여군에서는 전 시험시간에 걸쳐 대조군과 별다른 차이가 없었다. 양성대조약물인 diclofenac 투여군은 전 시간대에 걸쳐 대조군에 비해 유의성 있는 부종 억제를 나타내었다.

**GCSB-5가 carrageenan으로 유도된 육아종 형성에 미치는 영향** - 생리식염수만을 투여한 대조군의 경우 carrageenan에 의해 형성된 삼출액량과 육아종의 무게는 각각 15.0 ml 및 2.6 g으로 나타났으며, GCSB-5 모든 용량 투여군에서 대조군에 비해 별다른 차이가 나타나지 않았다. 양성대조약물인 diclofenac의 삼출액량은 8.8 ml로 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었으나, 육아종의 무게는 1.8 g으로 대조군과 차이가 없었다(Table IV).

**GCSB-5가 adjuvant로 유도된 흰쥐의 관절염에 미치는 영향** - 대조군의 부종증가율은 adjuvant 투여 2일 후 71.6%, 8일 후 70.6% 및 20일 후 77.9%로 시험 전 기간을 걸쳐 일정한 수준을 유지하였다. GCSB-5 300 mg/kg 용량 투여군은 6일째에 53.9%의 부종율을 나타내었으며, 600 mg/kg 투

**Table III.** Effect of 2 weeks administration GCSB-5 on carrageenan-induced hind paw edema in rat

Group	Dose (mg/kg)	Increased percent of paw volume (%)				
		0.5	1	2	4	6 (hr)
Control	0	27.0 ± 1.9	31.0 ± 1.5	48.3 ± 2.7	78.3 ± 3.9	75.6 ± 3.5
GCSB-5	30	26.6 ± 1.7 (1.3)	28.5 ± 1.5 (8.0)	38.7 ± 4.7 (19.9)	67.4 ± 7.3 (14.0)	59.9 ± 4.5 (20.8)
		16.3 ± 1.5** (39.6)	22.5 ± 2.4** (27.4)	38.9 ± 2.0 (19.4)	54.8 ± 3.4** (30.0)	52.9 ± 4.1** (30.0)
	300	14.2 ± 2.0** (47.5)	15.2 ± 2.0** (50.9)	29.7 ± 3.0** (38.5)	43.6 ± 3.4** (44.4)	38.9 ± 3.2** (48.6)
		600	23.4 ± 2.4 (13.3)	24.5 ± 2.4 (21.0)	35.9 ± 2.3 (25.7)	58.0 ± 4.7** (26.0)
Diclofenac	5	12.0 ± 1.8** (55.5)	13.7 ± 1.4** (55.6)	22.0 ± 2.0** (54.4)	49.2 ± 3.9** (37.1)	51.8 ± 4.0** (31.5)

The values in parentheses indicate percent inhibition. Each value represents mean ± S.E.M. from 8-12 rats per group.

\*\*Significantly different ( $p < 0.01$ ) from control group.

**Table IV.** Effect of GCSB-5 on carrageenan-induced granuloma formation

Group	Dose (mg/kg)	Volume of exudate (ml)	Inhibition (%)	Granulation tissue (g)	Inhibition (%)
Control	0	15.0 ± 1.0		2.6 ± 0.2	
GCSB-5	30	14.8 ± 1.1	1.3	2.5 ± 0.2	3.8
	100	13.4 ± 1.3	10.7	2.6 ± 0.3	0
	300	13.6 ± 0.8	9.3	2.3 ± 0.2	11.5
	600	13.3 ± 1.0	11.3	2.3 ± 0.2	11.5
Diclofenac	5	8.8 ± 1.0**	41.3	1.8 ± 0.3	30.8

Each value represents mean ± S.E.M. from 9-12 rats per group. \*\*Significantly different ( $p < 0.01$ ) from control group.

**Table V.** Effect of GCSB-5 on adjuvant-induced arthritis

Group	Dose (mg/kg)	Increased percent of paw volume (%)					
		2	6	8	14	18	20 (day)
Control	0	71.6 ± 3.3	71.7 ± 4.5	70.6 ± 4.6	67.0 ± 2.9	71.8 ± 3.2	77.9 ± 3.5
GCSB-5	30	72.8 ± 3.7	71.1 ± 3.8	67.9 ± 3.9	70.7 ± 3.0	79.7 ± 3.6	77.0 ± 2.6
		(-1.7)	(0.7)	(3.9)	(-5.6)	(-11.0)	(1.2)
	100	81.5 ± 4.4	71.3 ± 4.6	74.9 ± 4.0	75.9 ± 6.0	80.7 ± 4.4	79.5 ± 3.7
		(-13.9)	(0.6)	(-6.1)	(-13.3)	(-12.4)	(-2.1)
	300	60.3 ± 2.6	53.9 ± 2.8*	58.7 ± 1.8	67.3 ± 2.4	70.5 ± 2.3	67.5 ± 2.1
		(15.8)	(24.8)	(16.9)	(-0.4)	(1.8)	(13.4)
	600	66.7 ± 3.3	60.0 ± 2.9	62.7 ± 3.1	65.3 ± 3.3	64.9 ± 2.9	66.4 ± 3.3*
		(6.8)	(16.3)	(11.2)	(2.6)	(9.6)	(14.7)
Diclofenac	5	64.1 ± 4.6	62.7 ± 2.8	54.6 ± 3.0*	60.3 ± 3.1	69.6 ± 4.2	61.1 ± 3.7**
		(10.4)	(12.5)	(22.7)	(10.1)	(3.1)	(21.6)

The values in parentheses indicate percent inhibition. Each value represents mean ± S.E.M. from 8-12 rats per group. \*\*\*Significantly different ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) from control group.

여군은 20일째에 66.4%의 부종을 나타내었다. 이는 같은 시간 대조군의 부종율인 71.7% 및 77.9%와 비교하여 유의적인 부종 억제를 나타내었지만 다른 시험기간에서는 대조군과 별다른 차이가 없었다. 또한 30 및 100 mg/kg 용량 투여군도 전 시험기간에 걸쳐 대조군과 별다른 차이를 나타내지 않았다. 양성대조약물인 diclofenac은 8일, 20일째에 대조군에 비해 유의적인 부종 억제 효과를 나타내었지만 다른 시험기간에서는 대조군과 차이가 없었다(Table V).

**단회투여 독성시험** - GCSB-5의 독성여부를 확인하기 위한 독성시험을 시행한 결과 2 g/kg의 용량까지 개체의 사망이나 이상 증상을 보이지 않았다. 14일 경과 후 부검관찰에서 이상소견을 관찰할 수 없었으며, 투여 7일 및 14일에 수컷 시험물질 투여군에서 대조군에 비하여 체중증가 억제 경향이 일부 관찰되었으나, 암컷 시험물질 투여군에서는 순조로운 체중증가가 관찰되었다.

## 고 찰

본 연구는 생체내 여러 급만성 염증모델에서 GCSB-5의 항염증 효능을 평가하였다.

염증은 여러 가지 형태의 감염이나 생체 내 대사산물 중의 자극성 물질에 대한 생체 내 방어기전의 발현이며,<sup>14)</sup> 다양한 화학적 매개체가 염증의 발현 기전에 관여하고 있어 그 병인도 매우 복잡하다. 생체 내 염증 반응은 대체로 3단계로 나뉘어 설명되어진다. 즉, 염증의 제 1단계는 혈관확장과 투과성 항진이고, 제 2단계는 다핵백혈구의 점착과 유주이며, 염증의 제 3단계는 계속되는 단핵세포의 침윤, 결합조직의 증식, 혈관의 신생이다. 따라서 본 시험에서는 염증 반응의 각 단계를 잘 나타내는 4가지 대표적인 시험법

을 이용하여 GCSB-5의 항염증 작용을 검색하였다.

첫째, 염증 조직에서 시험물질의 혈관 투과성 항진에 대한 효과를 관찰하기 위하여 초산을 투여하고, 투과성 항진의 지표로 복강 내로 유출되는 Evans blue의 색소량을 지표로 하는 혈관 투과성 항진 모델을 사용하였다. 모세혈관 투과성 항진은 비만세포 등이 자극되어 분비되는 염증성 매개물질(histamine, prostaglandins, leukotrienes 등)에 의해 매개되어지며, 그로 인해 체액과 혈장 단백질이 복강 내로 삼출되게 된다. 본 실험에서는 고용량인 GCSB-5 600 mg/kg 용량군을 제외한 GCSB-5 모든 용량 투여군(30, 100 및 300 mg/kg)에서 대조군에 비해 유의적으로 혈관 투과성 항진을 억제하였다. 이러한 혈관 투과성 억제 효과는 앞서 언급한 여러 염증 매개 물질의 차단과 관련된 것으로 여겨지나, 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

둘째, 급성 염증반응의 대표적인 모델인 carrageenan에 의한 족부종 시험법으로, 국소 부위에서 염증이 일어나면 염증 부위에 혈관 확장, 혈관벽의 투과성 항진, 백혈구 및 대식세포의 침윤 등이 나타나므로, carrageenan에 의한 족부종 모델은 이러한 삼출형 염증과 매우 밀접한 관계가 있다. 기염제로 사용되는 carrageenan은 해조류에서 추출한 지질 다당체의 일종으로서 대식세포에 대한 선택적 독성작용에 의해 급성 및 만성 염증을 일으키는 특성을 가지고 있으며,<sup>15)</sup> 두 가지 특징적인 부종상태를 유발한다. Carrageenan으로 유도된 부종에 관여하는 화학적 염증매개 인자는 carrageenan 주사 후 1시간이 histamine과 serotonin이고, 2.5시간까지가 kinins이며, 2.5시간 이후가 prostaglandins이라고 하며, 이는 크게 1시간 전의 phase I과 2시간 이후의 phase II로 나눌 수 있다.<sup>16)</sup> 본 연구에서 GCSB-5를 단회 경구 투여한 후, carrageenan으로 유도된 족부종의 변화 양상

을 관찰한 결과, GCSB-5의 모든 용량 투여군에서 대조군과 차이를 나타내지 않았다. 그러나 이와는 달리, GCSB-5를 300 mg/kg 용량으로 2주간 경구 투여한 군에서는 carrageenan 투여 후 0.5시간부터 6시간까지 강한 부종 억제작용을 나타내었고, 100 mg/kg 용량 투여군에서도 2시간을 제외한 모든 시험시간에서 유의적인 부종 억제 작용을 나타내었다. 고용량인 600 mg/kg 투여군은 4시간 및 6시간에서만 유의적인 부종 억제 효과를 나타내었다. 따라서 GCSB-5는 phase I 및 II의 전 단계에 걸쳐 carrageenan으로 유도된 염증 반응을 억제하는 것으로 생각되어진다. 또한 GCSB-5와 같은 생약복합제의 경우 용량-반응성이 'U자 형태를 보이는, 즉 저용량과 고용량에서는 약효를 나타내지 않는 경우가 종종 있으므로,<sup>17)</sup> 본 실험에서 사용된 600 mg/kg의 용량에서도 별다른 항염작용이 나타나지 않았다고 사료된다.

셋째, 흰쥐의 adjuvant에 의한 관절염 시험은 인간의 류마티스 관절염과 유사한 염증성 관절 질환의 모델로서 다양한 소염제 및 면역조절제의 작용과 치료효과의 기전을 연구하기 위해 널리 사용되어지고 있으며,<sup>18)</sup> adjuvant 투여 후 3-5일에서 일차적으로 주사한 부위에 염증으로 인한 최대 손상이 유발되어 11-12일에는 그 외 비적용 부위에까지 2차적 손상을 일으키는 것을 특징으로 하는 만성 염증의 모델로 알려져 있다. Pearson 등<sup>19)</sup>에 의하면, 만성 염증 유발에 사용한 Freund's complete adjuvant는 *Mycobacterium tuberculosis*의 사균과 기타 혼합물로 이루어진 것으로 생체 내에서 항원·항체반응에 의한 지연형 알레르기 반응을 유발함으로써 만성 관절 류머티즘 또는 베체트증과 같은 만성 관절염을 유발시킨다고 한다. GCSB-5 300 mg/kg과 600 mg/kg 용량 투여군만이 각각 6일과 20일째 되는 날에 일부 유의적 부종 억제 작용을 나타내었을 뿐 다른 용량군에서는 대조군에 비해 별다른 차이를 나타내지 않았다. 이는 GCSB-5가 자가 면역 질환인 류마티스 관절염에는 별다른 효과가 없는 것으로 생각된다.

마지막으로 염증 부위에 모세혈관의 신생세포의 증식과 더불어 결합 조직의 기질이 형성되는 만성 염증을 증식형 염증이라 한다.<sup>20)</sup> 본 연구에서 사용된 육아종방법은 증식형 염증의 주된 모델이나 본 연구 결과에서 GCSB-5의 모든 용량군은 육아종 형성 및 삼출물의 양에 영향을 미치지 않았다.

그리고 GCSB-5의 안전성을 평가하기 위하여 단회투여 독성시험을 시행한 결과 2 g/kg까지 사망한 개체가 관찰되지 않았고, 체중변동이나 임상증상 및 부검조건에서도 별다른 이상이 발견되지 않아 본 시험에 사용된 GCSB-5는 비교적 안전한 약물로 인정되었다.

따라서, 이상의 급만성 항염증 시험법을 통해 얻어진 GCSB-5의 효능 평가 결과를 종합하여 보면, GCSB-5는 만성 염증에서보다는 급성 염증에서 탁월한 항염증 작용을 나

타내는 것으로 여겨진다. 앞으로 골관절 치료제로서 GCSB-5를 개발하기 위하여 본 연구와 더불어 생체 내의 골관절염 모델에서의 항관절과 관련된 기전 연구가 더욱 진행되어야 할 것이다.

## 사 사

본 연구는 (주)녹십자의 지원으로 수행되었습니다.

## 인용문헌

- Gordon, G. V., Villanueva, T., Schumacher, H. R. and Gohel, V. (1984) Autopsy study correlating degree of osteoarthritis, synovitis and evidence of articular calcification. *J. Rheumatol.* **11**: 681-686.
- Pascucci, R. A. (2002) Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors: indications and complications. *J. Am. Osteopath. Assoc.* **102**: 487-489.
- Corley, D. A., Kerlikowske, K., Verma, R. and Buffler, P. (2003) Protective association of aspirin/NSAIDs and esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* **124**: 47-56.
- Kim, H. W., Kwon, Y. B., Ham, T. W., Roh, D. H., Yoon, S. Y., Han, H. J., Kang, S. K., Lee, H. J., Mar, W. C., Yang, I. S., Beitz, A. J. and Lee, J. H. (2002) The antinociceptive and anti-inflammatory effect of ethylacetate extracts from Bang-Poong (*Radix Ledebourieliae*) on the Freund's adjuvant-induced arthritis in rats. *J. Vet. Sci.* **3**: 343-349.
- Ida, Y., Satoh, Y., Katsumata, M., Nagasao, M., Hirai, Y., Kajimoto, T., Katada, N., Yasuda, M. and Yamamoto, T. (1998) Two novel oleanolic acid saponins having a sialyl Lewis X mimetic structure from *Achyranthes fauriei* root. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**: 2555-2558.
- Hong, N. D., Rho, Y. S., Kim, J. W., Won, D. H., Kim, N. J. and Cho, B. S. (1988) Studies on the general pharmacological activities of *Eucommia ulmoides* Oliver. *Kor. J. Pharmacogn.* **19**:102-110.
- 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외(1999), 中藥大辭典, 3019, 도서출판정담, 서울.
- 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외(1999), 中藥大辭典, 477, 도서출판정담, 서울.
- 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외(1999), 中藥大辭典, 5147, 도서출판정담, 서울.
- Whittle, B. A. (1964) The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic and non-narcotic analgesics. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **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 antiinflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **111**:

- 544-547.
12. Tsurufuji, S., Min, K. R. and Misuno, C. (1979) Effect of colchicines on carrageenan-induced granulomatous inflammation in rat. *J. Pharmacobiodyn.* **2**: 113-118.
  13. Winder, C.V., Lembke, L. A. and Stephens, M. D. (1969) Comparative bioassay of drugs in adjuvant-induced arthritis in rats: flufenamic acid, mefenamic acid, and phenylbutazone. *Arthritis Rheum.* **12**: 472-482.
  14. Robbins, S. L., Kimar, V. and Cotran, R. S. (1994) Pathologic basis of disease. WB Saunders company, Pennsylvania.
  15. Bonney, R. J., Gery, I., Lin, T. Y., Meyenhofer, M. F., Acevedo, W. and Davies, P. (1978) Mononuclear phagocytes from carrageenan-induced granulomas. Isolation, cultivation, and characterization. *J. Exp. Med.* **148**: 261-275.
  16. Di Rosa, M., Giroud, J. P. and Willoughby, D. A. (1971) Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J. Pathol.* **104** :15-29.
  17. Eum H. A., Lee W. Y., Kim S. H., Kim J. Y., Park S. W., Lee J. S., Choi S. M., Pyo S., Kang M. J., Min Y. D., Shim S. H., Shin D. H. and Lee S. M. Anti-inflammatory activity of CML-1: an herbal formulation. *Am. J. Chin. Med.* **33**: 29-40.
  18. Taurog, J. D., Sandberg, G. P. and Mahowald, M. L. (1983) The cellular basis of adjuvant arthritis. II. Characterization of the cells mediating passive transfer. *Cell. Immunol.* **80**: 198-204.
  19. Pearson, C. M., Waksman, B. H. and Sharp, J. T. (1961) Studies of arthritis and other lesions induced in rats by injection of Mycobacterial adjuvant. *J. Exp. Med.* **113**: 485-510.
  20. Colville-Nash, P. and Lawrence, T. (2003) Air-pouch models of inflammation and modifications for the study of granuloma-mediated cartilage degradation. *Methods Mol. Biol.* **225**: 181-189.

(2005년 10월 25일 접수)