

Ginkgo Terpene의 *Candida albicans*로 인한 관절염에 대한 치료효과

이순현 · 이주희 · 한용문[#]

동덕여자대학교 약학대학 면역·미생물학교실
(Received December 31, 2004; Revised March 8, 2005)

Therapeutic Anti-inflammatory Effect of Ginkgo Terpene on Arthritis due to *Candida albicans*

Soonhyun Lee, Jue-Hee Lee and Yongmoon Han[#]

College of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract — *Candida albicans*, a polymorphic fungus, causes systemic and local infections. Recent reports show that the fungus is a main etiological agent for the arthritis. For treatment, antifungal drugs and/or rheumatoid drugs are used, but resistance and side effects limit application of the drugs. In search of new sources for treatment of the fungal arthritis, we choose EGb 761 (extract of *Ginkgo* leaves 761), one of the most popular over-the-counter herbal medicines. The EGb 761 contains two major ingredients such as terpene and flavonoid. In the present study, we examined if the terpene portion of EGb 761 had anti-inflammatory activity against *C. albicans*-caused arthritis. The terpene was extracted with combination of methanol and water from the EGb 761, followed by gel-permeation chromatography. Presence of terpene was determined by the Salkowski colorimetric method and HPLC analysis. For an animal model of inflammation induction, mice were given an emulsion form of *C. albicans* cell wall mixed with Complete Freund's Adjuvant (CFA) by footpad-injection. Results showed that intraperitoneal administration of the water-soluble portion that contained terpene and flavonoid reduced the inflammation. Whereas the terpene had anti-inflammatory activity, flavonoid portion had no such activity. For determination of possible mechanism of the activity, the terpene seemed to be suppression of nitric oxide (NO) production from LPS-treated macrophages. Taken together, the *Ginkgo* terpene may have anti-inflammatory effect against *C. albicans*-caused arthritis, possibly by blocking NO production.

Keywords □ *Candida arthritis*, EGb 761, *Ginkgo* terpene, anti-inflammation, NO, mice

*Candida albicans*는 진균 중에서 가장 많은 문제를 일으키는 다형태성 진균으로 전신감염과 아구창(thrush), 질염(vaginitis)같은 국소적 감염을 일으킬 뿐만 아니라 무릎, 둔부, 어깨부위의 관절 등에 침범하여 감염성 관절염의 원인이 되기도 한다.¹⁻³⁾ 이러한 *C. albicans*에 의한 관절염은 최근에 점차 증가하고 있으며^{1,2)} 특히, 관절에 glucocorticoid와 같은 면역억제제를 투여한 경우, 인공관절 이식 등의 장기 이식수술로 인하여 면역력이 억제된 경우,^{2,4)} Non-Hodgkin's lymphoma, hematological malignancies 같은 질병, 암환자나 AIDS 감염으로 인한 면역결핍 환자, 당뇨병과 같은 소모성 질환자, 간 또는 신부전 환자, 저체중 신생아에게서 발병될 가능성이 빈번한 것으로 알려져 있다.^{4,5)} 이러한

관절염은 궁극적으로는 관절연골 조직이 파괴되어 관절의 기능을 상실하게 된다. 이에 대한 치료약으로는 azole 계열의 fluconazole, itraconazole이나 polyene 계열의 amphotericin B 등의 항진균제(antifungal drug)가 단독 또는 병용하여 사용되며^{1,4)} *C. albicans* 감염 치료 후 유발된 관절염 경우에는 관절염제제로 치료한다. 예를 들면, gold salt, methotrexate, sulfasalazin, azathioprine와 같은 rheumatoid 치료제(DMARDs : disease-modifying anti-rheumatic drugs)나^{6,7)} naproxen, ibuprofen, indomethacin, sulindac, diclofenac 등과 같은 NSAIDs(non steroidal anti-inflammatory drugs) 계열 진통·소염제 약물을 사용하기도 한다.⁸⁾

*C. albicans*로 의한 관절염 치료에 있어 항진균제의 투여는 비록 제한적이라 하더라도 이 약물에 대한 내성과 부작용 때문에 효과가 크지 않다.³⁾ DMARDs 투여의 경우에도 완치 확률이 높지 않은 반면에 투여를 중단한 후 재발 또는 악화될 위험이 크

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-940-4521 (팩스) 02-940-4195
(E-mail) ymhan@dongduk.ac.kr

며, 신독성 또는 간독성 등의 부작용 발생 가능성이 많다. 또한 장기 복용의 경우에는 약물에 대한 내성과 기회감염의 가능성이 증가하기 때문에 사용이 무척 제한적이며, NSAIDs 경우에도 근본적인 원인치료가 될 수 없다.^{6,7,9)} 즉 관절염 진행을 억제시키거나 연골조직을 보호할 수는 없고 오직 통증 및 경직성을 감소시키는 정도의 증상완화 효과만 기대되며 장기복용의 경우, 위장관 장애와 간장 및 신장 기능의 감소, 고혈압 등의 부작용 발생 가능성이 매우 높다.⁹⁾ 따라서 최근에 이러한 기존 치료제의 부작용 때문에 *C. albicans*로 인한 관절염과 같은 만성적 염증치료에 부작용을 최소화하고 전달성이 개선된 새로운 약물 및 제형의 필요성이 요구된다. 이러한 일환으로 본 연구에서는 천연물에서 가능성이 있는 물질을 검색하였다.

은행잎 추출물인 EGb 761(extract of *Ginkgo leaves* 761)는 미국이나 유럽에서 over-the-counter(OTC) 의약품 중 가장 많이 판매되고 있는 천연물제제로,¹⁰⁾ EGb 761의 주요 성분은 크게 terpene trilactone인 ginkgolides와 flavonoid glycosides로 나눌 수 있다. Ginkgolides는 탄소수 20개의 diterpenoid(ginkgo terpenoid)로 hydroxyl 기능기 숫자와 위치에 따라 ginkgolide A, B, C, J 및 M과 sesquiterpene lactone인 bilobalide 등이 있으며, flavonoids에는 kaempferol, isorhamnetin, myricetin, quercetin과 rutin 등이 있고 HPLC의 분석에 의하면 EGb 761는 flavonoid glycosides를 22~27% 정도 포함하고 있으며 terpenoids를 6% 정도 함유하고 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 이 두 성분 군의 화학구조는 Fig. 1에 도식되어 있다. EGb 761의 효과는 뇌혈관 및 말초혈관 확장작용과 혈액순환 개선효과가 있으며,¹¹⁻¹³⁾ 항산화효과에 의한 free radical제거로 세포막 손상을 방지하며, 콜레스테롤 감소효과 보고도 있다.¹⁴⁾ 최근에는 대뇌 신경계 장애,¹⁵⁾ Alzheimer 질환 같은 노인성 치매의 치료와 예방에 대한 신경보호약물로서 기대가 되고 있다.¹³⁻¹⁵⁾ EGb 761의 주요성분인 ginkgolides는 혈소판 응집저해 작용, 면역기능의 증가, prostaglandin 생성저해 효과 등이 보고되고 있으며,^{11,16,17)} 특히, 염증이 유발되었을 때 macrophage로부터 생산되는 nitric oxide(NO) 억제작용이 있는 것으로 알려지고 있다.¹⁹⁾ 그러므로 본 연구에서는 OTC 제제로 가장 많이 판매되고 있는 EGb 761의 상기와 같은 약물기전 중에서 항염효과가 알려져 있으므로 이 효과가 *C. albicans*로 유발된 관절염에 대한 효과여부를 연구 조사하였다.

재료 및 방법

실험동물

6~7주령의 BALB/c 암컷 생쥐(Charles River Lab, NY, USA)를 사용하였으며 멸균된 사료(Orient Inc, Seoul, Korea) 및 물은 자유롭게 먹게 하였다. 구입된 생쥐는 실험실 환경에서 1주일간 적응시킨 후 실험하였고, 동물실의 환경은 온도 25±2°C,

습도 55±5%로 유지하였으며 조명은 12시간 간격으로 밤과 낮을 조절하였다.

C. albicans cell wall extract(CW)의 분리

*C. albicans*의 세포벽은 본 연구실에서 예전에 보고된 방법을 사용하였다.¹⁹⁻²¹⁾ 이 과정을 간략히 기술하면, glucose-yeast extract peptone(GYEP) broth에서 배양한 *C. albicans* 균을 수집하여 0.1 M disodium EDTA(pH 7.5)와 0.1 M-trisodium EDTA(pH 9.0)로 연속 처리한 후 0.3 M 2-mercaptoethanol로 30분 동안 실온에서 처리한 다음 원심분리 방법으로 상등액을 수집하여 투석막(Sigma, St. Louis, MO, USA; membrane cut-off =12,000 Da)에 넣고 멸균된 탈이온수에 대하여 3일 동안 투석하였다. 물은 6시간마다 교체하였으며 투석이 완료된 후 투석막 내부물질을 동결건조(Eyela FD-1000, Tokyo, Japan)하여 분말화하였다. 추출한 세포벽은 desiccator(Sigma) 안에 저장보관 하였다.

EGb 716에서 terpene 성분추출과 성분확인

EGb 761(Emil Flachsmann AG, Wädenswil, Switzerland) 5g을 클로로포름과 메탄올 혼합액 150 ml(5:1 v/v)에 넣고 간헐적으로 진탕하면서 실온에서 24시간 동안 추출하였다.²²⁾ 수집한 상등액을 rotary vacuum evaporator(Eyela)을 이용해 용매를 제거하고 남은 잔사에 10 ml 증류수를 가해서 수용성 분획만을 분리하고 동결 건조하였다. 이 수용성 물질을 GH 415로 명명하고 HPLC 분석은 C18 역상 컬럼(Nova-Pak 4.6×150 mm; Waters, USA)을 사용하였으며 비교물질로 ginkgolide B(Sigma)를 사용하였다. 계속적으로 GH 415를 gel permeation chromatography 방법으로 분획하였다. 즉, Sephadex G-50 Fine(Pharmacia, Uppsala, Sweden)으로 충전된 컬럼(직경 2 cm×높이 70 cm; Pharmacia)에 물에 용해한 GH 415를 여과(0.45 µm; Corning, NY, USA)한 다음 이 column에 주입하고 이온증류수를 이동상으로 하여 분획하였다. 각 분획은 흡광도 450 nm에서 측정하였다. 분획된 fraction 성분검색을 위한 확인 시험으로 terpene 성분은 Salkowski 반응법으로 확인하였으며 flavonoid 성분은 금속 마그네슘과 염산을 사용하여 확인하였다. Terpene 성분을 함유하고 있는 peak를 Fr. I로 명명하였다.

*C. albicans*로 유발된 관절염 염증에 대한 GH 415의 항염증 효과검색

CFA(Complete Freund's Adjuvant; GibcoBRL, NY, USA)를 DPBS(Dulbecco's phosphate buffered saline solution; Sigma)와 1:1(v/v)의 비율로 혼합하여 sonicator(Sonics & Materials Inc., CT, USA)로 유화시킨 후 syringe로 생쥐의 오른쪽 뒷발바닥에 다양한 용량으로 3일 동안 피하 주사하여 염증을 유발시켰다. 족부중 상태는 2일에 한번씩 dial calipers(Mitatoyo Co., IL,

USA)로 측정하였다. 각각의 대조군으로서 유발 물질을 투여하지 않은 왼쪽 뒷발도 같은 방법으로 측정하였다. 이 실험결과 50 μ l 가 적정용량으로 선택하였다(data not shown). 이 결과를 토대로 하여 CFA로 유발된 염증에 대한 GH 415의 효과를 먼저 조사하였으며, *C. albicans*로 기인되는 관절성 염증모델은 *C. albicans* cell wall(CW) 1mg을 1ml DPBS에 용해시킨 후 동일한 양의 CFA와 혼합하여 emulsion 형태로 제조한 다음에 생쥐의 오른쪽 뒷발에 이 혼합액을 50 μ l씩 3일 동안 피하 주사하여 족부종이 유발된 후 이 생쥐에게 GH 415(2 mg/mouse), 양성대조군 생쥐에는 indomethacin(60 μ g/mouse), 음성대조군 생쥐에는 희석용액으로 사용된 DPBS를 각각 3일에 한번씩 7회 복강으로 투여하였다. 부종억제도는 부종억제율(%)로 나타냈으며 [(약물투여군의 일정시간 후의 평균 부종용-대조군의 일정시간 후의 평균 부종용)/대조군의 일정시간 후의 평균부종용] \times 100로 계산하였다.

C. albicans 관절염 염증에 대한 Fr. I의 항염증 효과검색

상기 기술한 동일한 방법으로 생쥐를 5마리씩 모두 3군으로 나누는 후에 모든 군을 CW와 CFA의 혼합물질로 족부종 염증을 유발시킨 후, 1회 용량으로 첫번째 군에는 Fr. I(200 μ g/mouse)을, 두 번째 군은 양성대조군으로서 indomethacin(60 μ g/mouse)을, 세번째 군은 음성대조군으로 Fr. I 대신에 DPBS를 각각 복강으로 투여하였다. 투여 용량은 일회 200 μ l로 3일에 한번 씩 모두 5번 복강투여하고 각 군의 족부종을 측정하였다.

Fr. I의 NO(nitric oxide)의 생성억제 효과

Fr. I의 항염증 효과 작용기전을 검색하기 위해 macrophage를 사용하여 검사하였다.²³⁾ macrophage는 RAW 264.7 macrophage/monocyte cell line(한국세포주은행)을 사용하였으며 37°C 하에서 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양배지는 RPMI 1640 (Sigma)에 10%의 FBS(fetal bovine serum), penicillin(Sigma, 10,000 unit/ml) 및 streptomycin(Sigma, 10,000 unit/ml)을 첨가하여 사용하였다. macrophages의 NO 생성 유도를 위해 사용된 lipopolysaccharide(LPS; *Escherichia coli* 026:B6)는 Sigma에서 구입하였다. 실험 방법은 macrophages를 24시간 배양 후 2 \times 10⁵ macrophages/ml의 농도로 24-well plate에 넣고 LPS를 3 μ g/ml 농도로 첨가하고 syringe filter로 여과한 Fr. I을 50 μ g/ml의 농도로 첨가한 다음 48시간 동안 동일한 배양조건에서 배양하였다. 대조군 well에는 Fr. I 대신에 DPBS를 첨가하였고 또 다른 대조군 well에는 LPS와 Fr. I을 첨가하지 않고 오직 DPBS만을 첨가하였다. 이 macrophages에서 생성된 NO의 양은 48시간 배양한 후 각 well에서 세포 배양액을 취하여 원심분리한 후 상등액 100 μ l을 96-wall plate에 분주하고 Griess 시약[1%(w/v) sulfanilamide, 5%(v/v) phosphoric acid, 0.1%(w/v) N-1-naphthylethyl-

enediamine(Sigma) solution] 100 μ l와 혼합하여 10분 동안 반응시키고 microreader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 NaNO₂(Chameleon, Osaka, Japan)를 사용한 표준검량선(standard curve)을 작성하여 비교 산출하였다.

통계 처리

실험결과는 평균 \pm 표준오차(Mean \pm S.E.)로 계산하였다. 각 군간의 유의성 검증은 Student's t-test를 사용하였고 값이 5% 미만일 때에 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

EGb 716에서 Ginkgo terpene의 분리

GH 415 성분을 HPLC 방법으로 분석한 결과를 동일 조건하에서 ginkgolide B(Sigma) HPLC로 분석한 결과와 비교하였을 때 GH 415에는 ginkgolides group이 함유되어 있음을 알 수 있었으며, 이 결과는 이전의 본 연구실 실험결과²²⁾와 Lee와 Fitzloff의 분석결과²⁴⁾와 일치하였다.

GH 415를 size exclusion chromatography 방법으로 분획하였을 때, 세 peak로 분획되었으며 Salkowski 확인시험방법으로 처음 유출된 peak(Fr. I)가 terpene 성분임을 알 수 있었으며 Fr. II와 Fr. III은 마그네슘-염산 확인시험에 모두 양성으로 flavonoid 성분이 함유된 것으로 검색되었다. Fr. I의 terpene 순도를

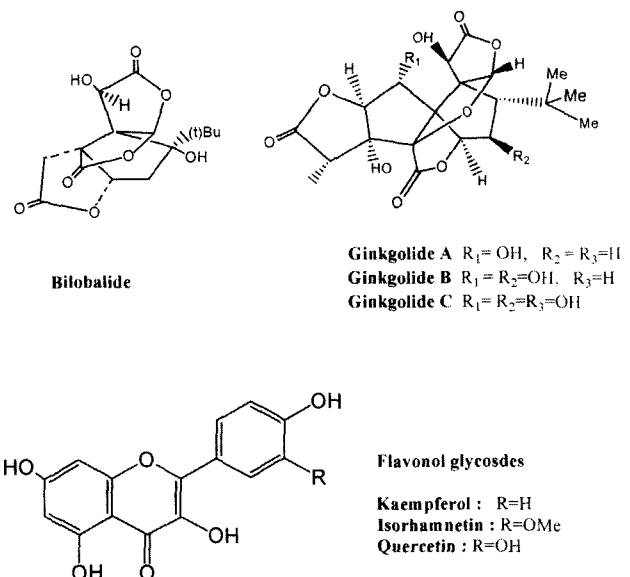


Fig. 1 - The active chemical structures of terpenoid ginkgolides and flavonols and a toxic substance, bilobalide, contained in the EGb 761. Different kinds of ginkgolides are named by A, B, and C depending upon the position and number of hydroxyl groups attached to them. In this work, bilobalide was removed by chloroform treatment before isolation of terpene from EGb 761.

ginkgolide B를 사용한 표준검량선(standard curve)과 비교한 결과 93%의 순도가 확인되었다. 이 결과는 Fr. I에 화학구조 모핵이 동일한 ginkgolides 그룹(Fig. 1)이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

GH 415의 항 *C. albicans* 관절염성 효과

먼저 ginkgolides를 함유하고 있는 EGb 761의 수용성 성분인 GH 415의 항염증효과를 조사하였다. BALB/c 생쥐의 뒷발바닥에 CFA를 25, 50, 100 μ l CFA/mouse 용량으로 투여하고 측정된 기초실험 결과 50 μ l/mouse에서 적절한 족부종이 형성되었다. 이 적정용량인 50 μ l CFA/mouse를 투여 받은 생쥐의 족부종에 대하여 GH 415의 항염증 효과를 조사하였을 때, GH 415를 투여 받은 생쥐는 GH 415 대신에 DPBS를 투여 받은 대조군에 비해서 족부종이 감소되었으며 7회 투여 후 경우에는 51% 이상 억제되어 GH 415가 CFA로 유발된 일반염증에 효과가 있음을 알 수 있었다($P < 0.05$) (Fig. 2). 또한, *C. albicans* cell wall로 유발된 관절염성 염증에 대한 GH 415의 항염효과 검사결과에서도 GH 415를 투여 받은 생쥐의 부종억제율은 3회 투여 후 28%,

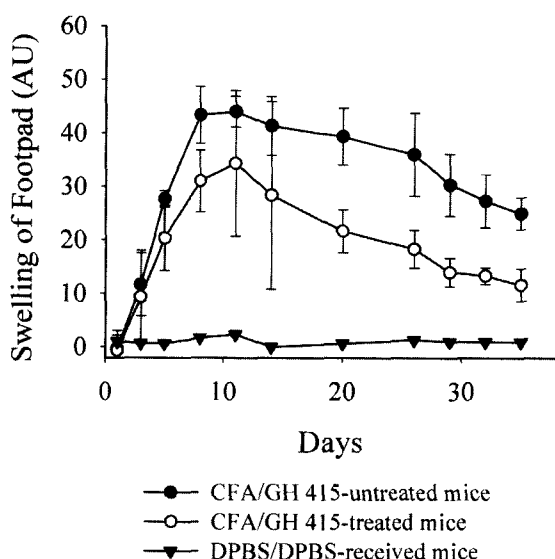


Fig. 2 – The GH 415 has anti-inflammatory effect on CFA-induced inflammation. The GH 415 (2 mg/dose) by i.p.-route reduced the footpad-edema of mice that had inflammation due to CFA injection to the footpad. The footpad-edema between GH 415 treated and GH 415 untreated mice groups declined ranging from approximately approximately 21% to 51% during the 35-day observation period. Difference between the two groups was significant ($P < 0.05$). Control mice groups that were given only DPBS maintained thickness of footpad when the CFA was not injected. Repeated experiments showed the similar results. Thickness of the edema was measured by a dial gauger in arbitrary unit (AU). Each group contained five mice. Bar indicates SE.

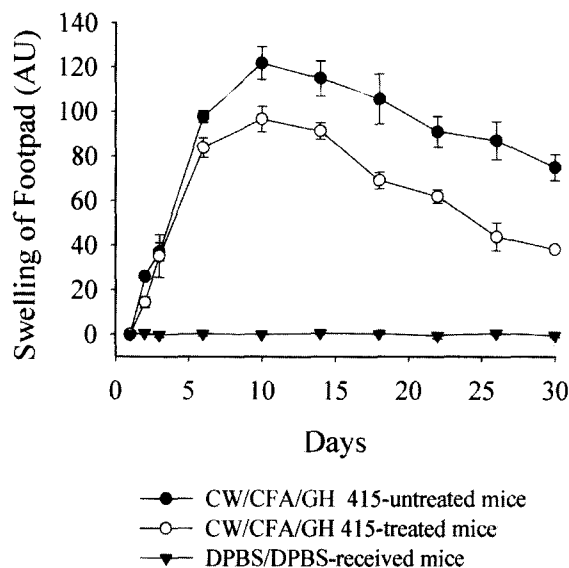


Fig. 3 – The GH 415 also reduces the inflammation induced by *C. albicans* cell wall. The GH 415 (2 mg/dose) resulted in reduction of the footpad-edema of mice groups having the inflammation caused by an injection of *C. albicans* cell wall (CW) mixed with CFA to the hind footpad as compared to mice groups that received no GH 415 ($P < 0.05$). Note that involvement of the CW induced around three folds more footpad-swelling when compared to CFA alone for the inflammatory induction (refer the scale of Y-axis in Fig. 2). Repeated experiments displayed the similar data. Thickness of the edema was measured by a dial gauger in arbitrary unit (AU). Each group contained five mice. Bar indicates SE.

7회 투여 후는 46% 정도의 부종억제 효과가 확인되었다. GH 415를 2회 투여 이후부터 30일 관찰기간 종료 때 까지 음성대조군 생쥐의 족부종과 비교 시 그 억제정도가 전반적으로 지속적으로 유지됨을 알 수 있었다($P < 0.05$) (Fig. 3). 반복실험에서도 유사한 결과가 관찰 되었다.

Fr. I의 항 *C. albicans* 관절염성 효과

C. albicans cell wall로 유발된 생쥐의 족부종에 대하여 GH 415에서 분리된 Fr. I(200 μ g/dose)을 투여 받은 생쥐는 Fr. I 대신에 DPBS를 투여 받은 대조군에 비하여 4회 투여 이후부터는 현저하게 부종이 억제되었으며, 이 때의 부종차이는 유의성이 있는 것으로 판정되었다($P < 0.05$) (Fig. 4). 또한, 양적(w/w)비교에서 이 부종억제는 기존의 소염진통제인 indomethacin(60 μ g/dose)과 유사한 형태로 억제됨이 관찰되었으며, 반복실험에서도 유사한 결과가 확인되었다.

Fr. I의 NO 생성억제 효과

Fr. I로 인한 macrophages의 활성화 억제를 현미경 하에서 관찰하였을 때, DPBS로만 처리한 경우에는 형태변화가 없으나

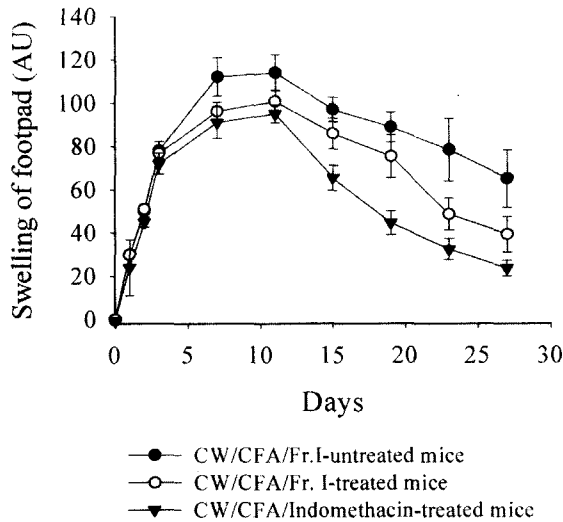


Fig. 4 – The Fr. I is responsible for the anti-inflammatory activity to the inflammation by candidal cell wall. The Fr. I reduced footpad-edema caused by CW mixed with CFA at 200 µg/dose which is 1/10 of GH 415 (2 mg/dose) as shown on Fig. 3. In addition, the reduction pattern displays in the almost same fashion as with indomethacin (60 µg/dose) that was used as a positive control. These reductions as compared to footpad-edema from untreated mice groups were significant ($P < 0.05$). Thickness of the edema was measured by a dial gauger in arbitrary unit (AU). Each group contained five mice. Bar indicates SE.

(Fig. 5A) LPS만으로 처리된 macrophages는 활성화되어 위족(pseudopod)이 형성되었음을 알 수 있다(Fig. 5B). 이에 비해 Fr.I와 LPS로 처리된 macrophages는 활성화가 억제되어 위족형성은 거의 관찰되지 않았으며, macrophages의 크기가 음성대조군(Fig. 5A)에 비하여 다소 커진 것을 알 수 있었다(Fig. 5C). 각 군의 상등액내의 NO 유무를 측정된 결과 LPS로 활성화된 양성대조군의 macrophages서 생성된 NO 양에 비하여 LPS와 Fr. I로 처리된 macrophages에서는 대략 57%의 NO가 억제되었음을 알 수 있었다(Fig. 6).

고 찰

은행잎 추출물인 EGb 761의 수용성 성분(GH 415)을 분리하여 HPLC 방법으로 분석했을 때 이 성분은 terpene계 물질인 ginkgolides와 flavonoid 성분을 함유하고 있었다. GH 415는 CFA로 유발된 생쥐의 일반적 족부종에 대하여 항염증 효과가 있었으며 *C. albicans* cell wall과 CFA 혼합물질로 유발된 *Candida* 관절염 동물모델에서도 항염증효과가 검출되었다. 이 효과가 terpene 성분에 의한 것인지를 조사하기 위해서 GH 415를 size exclusion chromatography로 분획된 terpene 성분을 함유한 Fr. I의 항염증 효과를 조사하였을 때 Fr. I도 항 *Candida* 관절염효

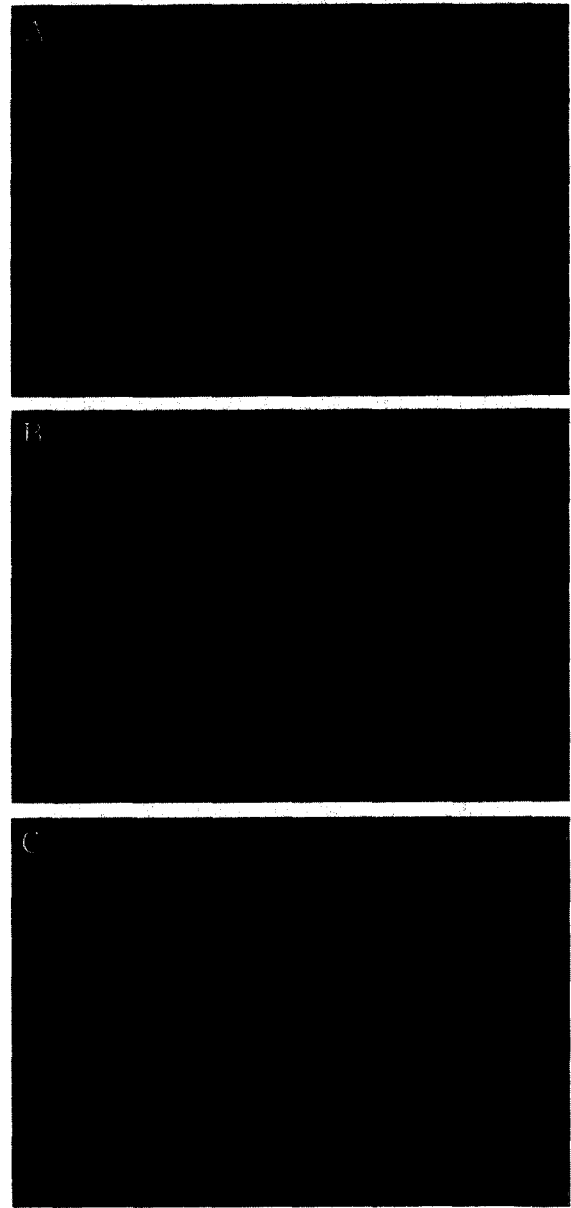


Fig. 5 – Microscopical analysis displays that the Fr. I suppresses activation of the LPS-treated macrophages. Macrophages that received diluent (DPBS) only show round shape (A), whereas macrophages treated with LPS (lipopolysaccharide) only demonstrate pseudopod formation around them (B). However, morphology of LPS-treated macrophages in the presence of Fr. I was mostly maintained their round shape although their size appears to be slightly bigger (C) than the DPBS-received macrophages (A). These results seems to be due to the suppression of activation of the macrophage by the Fr. I.

과가 있었다. 이 항 관절염효과는 indomethacin과 유사한 형태(pattern)로 부종을 감소시키는 것으로 관찰되었다. 이 항염증 효과의 작용기전 검색에서 *Ginkgo* terpene의 macrophages 활성화억제를 위족형성 감소 등으로 알 수 있었으며, 이러한 활성화억제

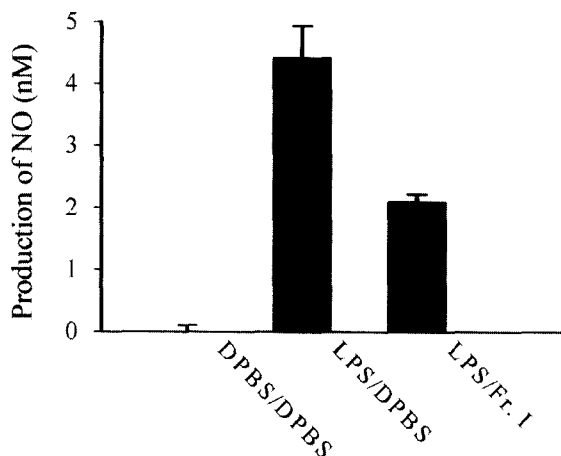


Fig. 6 – The Fr. I blocks NO production from the LPS-treated macrophages. To confirm suppression of macrophages activation by the Fr. I, NO production from the each group of the macrophages were measured by the Griess test. Results showed that NO production from the LPS alone-received macrophages (LPS/DPBS) was around 4.9 nM, whereas NO production from LPS and Fr. I-treated macrophages (LPS/Fr. I) was 2.1 nM. Macrophages given DPBS only showed little background. These data indicate that the Fr. I presence blocked approximately 57% of NO production ($P < 0.05$). These values were averages of triplicate repeated experiments. Bar indicates SE.

로 인한 NO 생성이 감소됨을 Griess 시험법으로 확인되었다. 이 결과를 고찰할 때, 염증이 유발되면 macrophages가 그 염증부위로 유입되어 부종이 형성되고,^{25,26)} 자극된 macrophage에서 NO가 생성 분비되어서 주변의 세포나 조직을 파괴하기 때문에 통증이 야기되는데,²⁷⁾ Ginkgo terpene은 염증부위에 유입된 macrophages에서 NO 생성을 억제하여 *C. albicans*로 인한 관절염 성 염증을 감소하는 것으로 사료된다. 연구결과를 종합하면, 천연물에서 획득되는 Ginkgo terpene 성분이 *C. albicans*로 기인되는 관절염치료에 효과가 있음이 규명되었으며, 이 성분은 부작용으로 문제가 보고되는 기존의 *Candida*성 관절염 치료제를 대신할 수 있는 가능성이 고려된다. 본 연구실에서는 이 결과를 바탕으로 하여 효과적인 성분전달을 위해 terpene을 liposome에 포접시켜 항염증 효과를 증대시키는 연구가 현재 진행 중에 있다.

감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단의 여자대학교 연구기반 확충사업 연구비지원에 의해 수행되었습니다.

문헌

1) Cuende, E., Barbadillo, C. E., Mazzucchelli, R., Isasi, C.,

- Trujillo, A. and Andreu, J. L. : *Candida* arthritis in adult patients who are not intravenous drug addicts: report of three cases and review of the literature. *Semin Arthritis Rheum.* **22**, 224 (1993).
- 2) Lerch, K., Kalteis, T., Schubert, T., Lehn, N. and Grifka, J. : Prosthetic joint infection with osteomyelitis due to *Candida albicans*. *Mycoses.* **46**, 462 (2003).
- 3) Azaceta, G., Olave, T., de los Martires, L. D., Delgado, C., Gutierrez, M. and Palomera, L. : Successful lipid-complexed amphotericin B treatment of *Candida* arthritis in a lymphoma patient. *Rev. Rhum. Engl.* **66**, 434 (1999).
- 4) Choi, I. S., Kim, S. J., Kim, B. Y., Joh, J. W., Kim, Y. I., Lee, S. K., Huh, W. S., Oh, H. Y., Kim, D. J., Kim, Y. G., Kim, M. K., Ko, Y. H. and Lee, B. B. : *Candida* polyarthritis in a renal transplant patient: case report of a patient successfully treated with amphotericin B. *Transplant Proc.* **32**, 1963 (2000).
- 5) Turgut, B., Vural, O., Demir, M. and Kaldır, M. : *Candida* arthritis in a patient with chronic myelogenous leukemia (CML) in blastic transformation, unresponsive to fluconazole, but treated effectively with liposomal amphotericin B. *Ann. Hematol.* **81**, 529 (2002).
- 6) Lee, D. M. and Weinblatt, M. E. : Rheumatoid arthritis. *Lancet.* **358**, 903 (2001).
- 7) Felson, D. T., Anderson, J. J. and Meena, R. F. : Use of short-term efficacy/toxicity tradeoffs to select second-line drugs in rheumatoid arthritis: a metaanalysis of published clinical trials. *Arthritis Rheum.* **35**, 1117 (1992).
- 8) Myers, L. K., Kang, A. H., Postlethwaite, A. E., Rosloniec, E. F., Morham, S. G., Shlopov, B. V., Goorha, S. and Ballou, L. R. : The genetic ablation of cyclooxygenase 2 prevents the development of autoimmune arthritis. *Arthritis Rheum.* **43**, 2687 (2000).
- 9) Bauer, H. and Marker-Hermann, E. : Therapy with non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Orthopade.* **32**, 1088 (2003).
- 10) Beek, T. A. : Chemical analysis of *Ginkgo biloba* leaves and extracts. *J. Chromato. A* **967**, 21 (2002).
- 11) Maeleennan, K. M., Darlington, C. L. and Smith, P. F. : The CNS effects of *Ginkgo biloba* extracts and ginkgolide B. *Prog. Neurobiol.* **67**, 235 (2002).
- 12) DeFeudis, F. Y. : *Ginkgo biloba* Extract (EGb 761) : Pharmacological activities and Clinical Application. *Elsevier* **97**, 135 (1991).
- 13) Kobuchi, H., Droy-Lefaix, J., Christen, Y. and Packer, L. : *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) inhibitory effect on nitric oxide production in the macrophage cell line Raw 264.7. *Biochem. Pharmacol.* **53**, 897 (1997).
- 14) Logani, S., Chen, M. C., Tran, T., Le, T. and Raffa, R. B. : Action of *Ginkgo biloba* related to potential for the treatment of conditions involving cerebral hypoxia. *Life Sciences* **1389**

- (2000).
- 15) Hu, L., Chen, Z., Cheng, X. and Xie, Y. : Chemistry of ginkgolides: structure-activity relationship as PAF antagonists. *Pure. Appl. Chem.* **71**, 1153 (1999).
 - 16) Nishida, S. and Satoh, H. : Comparative vasodilating action among terpenoids and flavonoids contained in *Ginkgo biloba* extract. *Clinica. Chimica Acta* **339**, 129 (2004).
 - 17) Braquet, P. and Hosford, D. : Ethnopharmacology and the development of natural PAF antagonists as therapeutic agents. *J. Ethnopharmacol.* **32**, 135 (1991).
 - 18) Zhao, H. W. and Li, X. Y. : Ginkgolide A, B, and huperzine A inhibit nitric oxide-induced nephrotoxicity. *Int. Immunopharmacol.* **2**, 1551 (2002).
 - 19) Han, Y. and Cutler, J. E. : Antibody response that protects against disseminated candidiasis. *Infect Immun.* **63**, 2714 (1995).
 - 20) Han, Y., Kozel, T. R., Zhang, M. X., MacGill, R. S., Carroll, M. C. and Cutler, J. E. : Complement is essential for protection by an IgM and an IgG3 monoclonal antibody against experimental, hematogenously disseminated candidiasis. *J. Immunol.* **167**, 1550 (2001).
 - 21) Han, Y., Ulrich, M. A. and Cutler, J. E. : *Candida albicans* mannan extract-protein conjugates induce a protective immune response against experimental candidiasis. *J. Infect. Dis.* **179**, 1477 (1999).
 - 22) Lee, S. and Han, Y. : Isolation and analysis of ginkgolides compound from EGb 761. *Dongduk Pharm. Res.* **7**, 39 (2003).
 - 23) Han, Y., Jin, B. S., Ko, S. K. and Lee, J. H. : Immunoactivity of ginsenosides Re and Rg1 enhances resistance of mice against experimental disseminated candidiasis. *Nat. Prod. Sci.* **10**, 134 (2004).
 - 24) Li, W. and Fitzloff, J. F. : Simultaneous determination of terpene lactones and flavonoid aglycones in *Ginkgo biloba* by high-performance liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **30**, 67 (2002).
 - 25) Lotito, A. P., Muscara, M. N., Kiss, M. H., Teixeira, S. A., Novaes, G. S., Laurindo, I. M., Silva, C. A. and Mello, S. B. : Nitric oxide-derived species in synovial fluid from patients with juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol.* **31**, 992 (2004).
 - 26) Nissler, K., Pohlers, D., Huckel, M., Simon, J., Brauer, R. and Kinne, R. W. : Anti-CD4 monoclonal antibody treatment in acute and early chronic antigen induced arthritis: influence on macrophage activation. *Ann. Rheum. Dis.* **63**, 1470 (2004).
 - 27) Kinne, R. W., Brauer, R., Stuhlmuller, B., Palombo-kinne, E. and Burmester, G.-R. : Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* **2**, 189 (2000).