

소리쟁이 종자의 소염진통작용 및 간보호 효과

이신석 · 김대홍 · 임동술 · 이숙연*
삼육대학교 약학과

Anti-Inflammatory, Analgesic and Hepatoprotective Effect of Semen of *Rumex crispus*

Shinsuk Lee, Daehong Kim, Dongsool Yim, and Sookyeon Lee*
Department of Pharmacy, Sahmyook University, Seoul, 139-742, Korea

Abstracts – Roots of *Rumex crispus* (Rc) (Polygonaceae) has been used as therapeutic agents of acute and chronic cutaneous diseases, cathartics, fever and jaundice in folk medicines. Recently, Seeds of Rc has known as a digestive, an anticancer agent and a remedy of acute hepatitis, among many traditional folk medicines. So far it isn't reported about pharmacological effects of Rumecis Semen. The present study describes the preliminary evaluations of biological activities, anti-inflammatory activity (AA, Carrageenan) analgesic activity (writhing test), and hepatoprotective activities (CCl₄), of its methanol extract, ethyl acetate fraction and butanol fraction. Among them butanol fraction showed the highest activity in analgesic activity.

Key words – *Rumex crispus*, analgesic activity, anti-inflammatory activities, hepatoprotective activity.

소리쟁이(*Rumex crispus* L.)는 마디풀과(Polygonaceae)에 속한 다년생 초본으로 습지 근처에서 잘 자라는 식물이다. 줄기는 곧게 자라며 녹색바탕에 흔히 자주빛이 돌고 뿌리가 비대해 지며 높이는 30~80 cm이고 잎은 장타원형으로 꽃은 5~7월에 열린 녹색으로 피며 원추화서이다. 과실은 수과로 3릉형이고 3개의 숙존악에 싸여 있다.¹⁻³⁾ 동속식물로는 참소리쟁이(*R. japonicus*), 토대황(*R. gmelini*) 그리고 개대황(*R. aquaticus*) 등이 있고 동속식물의 뿌리를 한방에서는 양제근(羊蹄根, *Rumicis crispis Radix*) 또는 우이대황(牛耳大黃)이라고 하고 청열, 양혈, 화담, 지해, 통변의 효능이 있고 급성간염, 토혈, 변비 등에 효능이 있다고 알려져 있다.^{2,4)}

이 식물의 뿌리에 함유되어 있는 성분으로는 anthraquinone 화합물로 chrysophanol, emodin, nepodin, 그리고 1,5-dihydroxyanthraquinone과 anthrone이 존재한다고 보고되었고⁵⁾ 변비, 해열제 그리고 피부병 등에 외용한다.^{2,4)} 특히 최근연구에 의하면 소리쟁이 추출물의 항산화작용, 항균작용 및 항진균작용이 보고되어졌었다.^{6,7)}

소리쟁이의 종자를 양제인(羊蹄仁)이라 하고 구성성분으로는 lectin⁸⁾ 이외에는 알려진 것이 없고 분말로 하여 민간

에서 암을 치료하는데 사용하고 있다고 알려져 있다.

본 연구에서는 소리쟁이의 과실(羊蹄實)에서 숙존악 부분을 제거한 종자(羊蹄仁)를 수집하여 우선 생리활성 실험을 시행함으로써 소염, 진통 및 간보호효과에 대한 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출 – 소리쟁이 종자를 2001년 7월에서 8월 사이에 충남 당진 일대에서 채집하여 숙존악을 제거하여 2kg을 실험에 사용하였다. 표본을 삼육대학교 생약학 교실에 보관하였다.(표본번호Se-293017) 소리쟁이 종자를 환류냉각장치가 부착된 추출용기를 이용하여 MeOH로 수욕상에서 4시간씩 3회 추출한 뒤 여과하여 여액을 감압, 농축하여 MeOH추출물을 얻었다. 이 MeOH 추출물을 증류수에 현탁시키고 hexane, ethylacetate 및 butanol을 사용하여 연속으로 분획하여 감압 농축시켜 각각의 분획물을 얻었다.

실험동물 – 생쥐는 ICR계의 체중 20±2 g, 25±2 g, 흰쥐는 Sprague-Dawley계의 체중 200±20 g, 240±10 g인 것을 사용하였고, 실험동물은 대한실험동물(주)에서 구입하였다. 사육 온도는 22±2°C였고 고품사료(삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하였다.

*교신저자 (E-mail): leesy45@syu.ac.kr
(FAX): 02-3399-1617

시약 및 기구 - 추출용 용매는 1급 시약(E.P.)을 사용하였다. λ -carrageenan, acetyl salicylic acid, arachidonic acid(5, 8, 11, 14-Eicosatetraenamide, free acid, 99%), brewers yeast, Dimethyl Sulfoxide(DMSO), piroxicam과 phorbol 12-myristate 13-acetate (O-tetradecanoylphorbol 13-acetate, TPA)는 (이상 Sigma Chemical Co., U.S.A)과 olive oil(Shinyo Pure Chemical Co., Japan)을 사용하였다. 또한 s-GOT, s-GPT 측정은 commercial kit(Asan Pharm. Co. Seoul, Korea)을 사용하였다. 실험기구로는 Micrometer (Mitutoyo Corp., Tokyo, Japan; accuracy 0.01 mm), Digital Thermometer (Fluke, 50S), Plethysmometer (Ugo Basile, Comerio-Varese 7150)를 사용하였다.

시료의 투여 - MeOH Ex. 1000 mg/kg, EtOAc fraction 500 mg/kg 그리고 BuOH fraction 500 mg/kg의 sample을 1%-carboxy methyl cellulose (CMC) 용액에 현탁시켜 각각의 실험동물에 경구투여 하였다.

Arachidonic acid(AA)를 이용한 염증반응의 실험-Young과 Rao등의^{9,10} 방법으로 각 군당 12 마리의 ICR계 생쥐를 사용하였고, AA처리 1시간 전에 대조군은 vehicle(DMSO:H₂O=3:7)을, 실험군은 시료를 투여하였고 대조약물로 piroxicam 3 mg/kg을 경구 투여하였다. AA는 acetone에 녹여(100 mg/ml) 오른쪽 귀(2 mg/ear, 안쪽과 바깥에 10 μ l)에 autopipette을 사용하여 국소적으로 적용하였고 대조군에는 acetone을 적용하였다. 각 시료는 경구 투여하고 Ear thickness는 AA 처치 전(Ta)과 처치 후 1시간 뒤(Tb)에 측정하여 변화량(ΔT)을 구했고 부종억제 %는 다음과 같이 구하였다.

$$\% I = (Ta - Tb) / Tb \times 100$$

Carrageenan 유도에 의한 부종 실험 - 체중 240 \pm 10 g의 흰쥐 Sprague-Dawley계의 6마리를 한 군으로 하여 Winter¹¹ 등의 방법을 사용하여 부종실험을 실시하였다. carrageenan 투여 30분 전에 흰쥐의 오른쪽 발바닥의 용적을 측정 후 시료를 경구투여 하였고, 대조약물은 piroxicam (5 mg/kg)을 vehicle(DMSO:H₂O=3:7)에 녹여 사용하였다. 부종은 1%-carrageenan 0.1 ml/rat를 피하주사 하여 부종을 유발시켰고, 발바닥의 용적을 plethysmometer로 부종 정도를 측정하였다.

각각의 결과에서 각 군의 평균(Vt)을 구하였고, 시료투여 전 측정값(Vo)과 비교하여 그 변화량(ΔV)을 구하고 각 군의 부종 억제 %는 다음 식을 사용하였다.

$$\% I = (Vt - Vo) / Vo \times 100$$

Writhing Test에 의한 진통작용 - 체중 20 \pm 2 g의 ICR계 생쥐 6마리를 1군으로 하여 Whittle¹²의 writhing method에 따라 MeOH Ex. EtOAc fraction, BuOH fraction을 경구투

여하고 30분 후에 0.7% acetic acid soln. 0.2 ml/20 g을 복강내 주사하였다. 주사 10분 후에 10분 동안 writhing syndrome이 일어나는 횟수를 측정하였다. 이때, 대조군은 1%-CMC를 투여하였으며 대조약물로 piroxicam 3 mg/kg씩 경구투여 하였다.

사염화탄소 유도 간독성 실험 - Meclean 등의 방법¹³에 따라 체중 20 \pm 2 g의 ICR계 생쥐 10마리를 한 실험군으로 하여 시료를 2일간 투여하였다. 간 독성을 일으키기 위하여 1 ml/kg의 사염화탄소를 신선한 olive oil에 희석하여 경구 투여 하였다. 각 군에 시료 투여시작 후 3일째에 ether로 마취하여 생쥐 심장으로 부터 혈액을 채취하여 1500 rpm에서 5분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 혈청 transaminase의 측정은 Reitman-Frankel법을 사용하였고, s-GPT, s-GOT 측정용 시약을 사용하여 그 값을(IU/L) 측정하였다.

통계학적 처리 - 모든 data는 mean \pm standard error mean(S.E.M)나 percentage로 나타내었으며 유의성 검정을 위해 ANOVA test를 실시하였고 정상군 혹은 다른 군과의 비교를 위해 Neuman-keul test를 실시하였고 p values는 0.05 이하인 경우 유의성이 있다고 하였다.

결과 및 고찰

Arachidonic acid(AA)를 이용한 염증반응의 실험 - AA는 피부에 염증을 일으키는 물질로 AA를 생쥐의 귀에 국소적으로 처치하면 AA가 cyclooxygenase(COX)와 lipoxygenase(LOX) pathway를 거쳐 생산된 대사물인 prostglandins(PGs)과 leukotrienes이 짧은 염증반응(hyperemia, pain, edema, cellular infiltration)을 유발하고, 이 염증은 6시간 정도 지나면 사라지게 되며 COX와 LOX의 억제제에 의해 반응이 억제되나 COX 억제제보다 LOX 억제제에 더 선택적으로 억제되는 것으로 알려져 있다. AA에 의한 염증반응은 부종 유발시간이 빠르고, 혈관 투과성과 eicosanoid 생합성의 현저한 증가, 약간의 세포의 유입, 짧은 작용시간 등의 특징을 갖고 있다.^{9,10}

본 실험에서 생쥐 귀부종의 변화는 Fig. 1에서 Control은 92.0 \times 10⁻³, MeOH Ex. 38.8 \times 10⁻³이고 EtOAc fr.과 BuOH fr.이 각각 38.1 \times 10⁻³, 37.7 \times 10⁻³이고 대조약물로 사용한 Piroxicam이 18.2 \times 10⁻³로 확실한 효과를 나타내었다. 따라서 소리쟁이 종자의 MeOH Ex.와 EtOAc fr.과 BuOH fr. 이 각각 AA-유도성 귀 부종을 유의성 있게(p<0.05) 감소시켰다.

Carrageenan 유도에 의한 부종 실험 - carrageenan은 sulfated polysaccharide로 염증반응의 생화학적 작용기전은 아직 확실치는 않으나 Rosa¹⁴에 의하면 chemical mediator로 histamine, serotonin, PGs 및 kinin등의 염증을 유발과 진행에 관여하는 것으로 추정된다. carrageenan에 의한 부종은 histamine과 serotonin 및 bradykinin이 관여하는 초기상

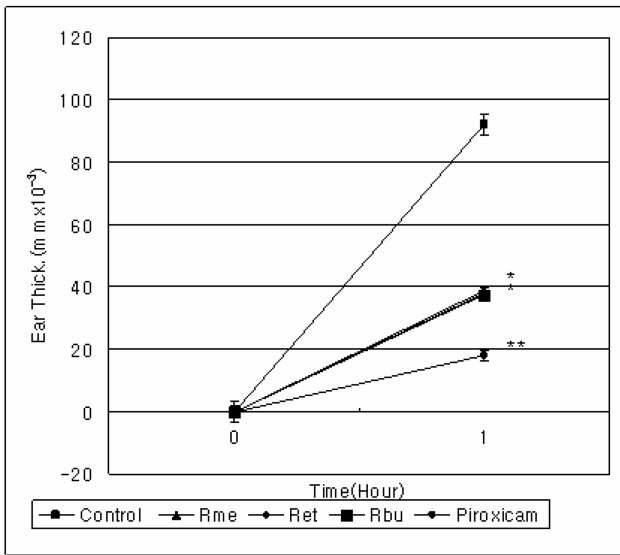


Fig. 1. Topical anti-inflammatory activity on mouse ear edema induced by arachidonic acid. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$); **Significantly different from the control group ($p < 0.01$). Rme: *Rumex crispus* MeOH Ex. REtO: *Rumex crispus* ethylacetate fraction Rbu: *Rumex crispus* butanol fraction.

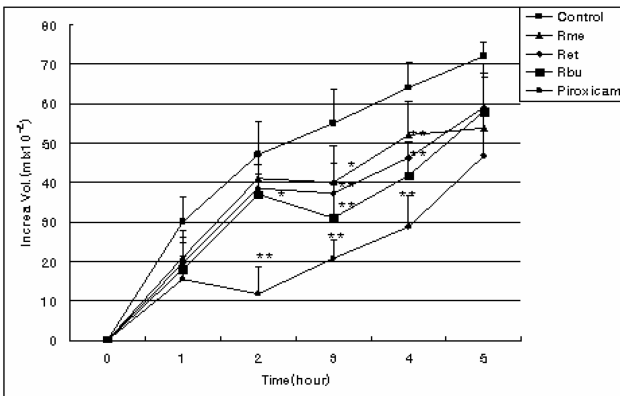


Fig. 2. Anti-inflammatory activity on rat hind-paw edema induced by carrageenan. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$); **Significantly different from the control group ($p < 0.01$). Rme: *Rumex crispus* MeOH Ex. REtO: *Rumex crispus* ethylacetate fraction Rbu: *Rumex crispus* butanol fraction.

태와 PGs 등의 arachidonate 대사체가 neutrophile mobilization을 일으켜 부종을 일으키는 말기로 나뉜다고 알려져 있다. Gilligan¹⁵⁾은 초기상태(2h)동안 substance P가 부종부위에서 급격한 증가가 나타남을 보고하였고, Bileviciute¹⁶⁾은 이 amidated peptide의 농도가 carrageenan 투여후 15분 이내에 2배 이상 상승되고 30분에 최고에 도달했다가 천천히 감소되며 24시간까지 증가된 상태로 존재함을 보고하였다. Bonta¹⁷⁾등은 carrageenan에 의한 급성 염증은 주로 기염제 주입후 염증의 주 매개체인 PGs과 복합

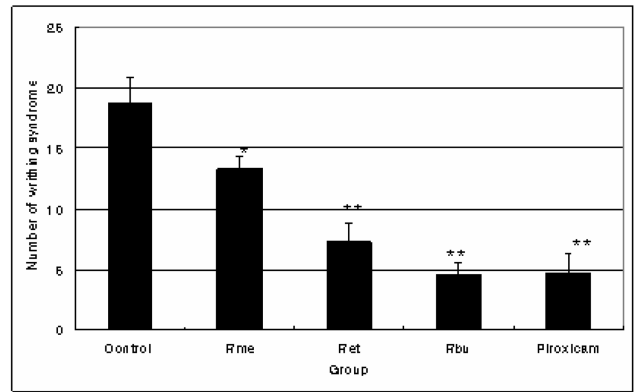


Fig. 3. Analgesic activity on the writhing syndrome in mice. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$); **Significantly different from the control group ($p < 0.01$). Rme: *Rumex crispus* MeOH Ex. REtO: *Rumex crispus* ethylacetate fraction Rbu: *Rumex crispus* butanol fraction.

체에 의해 나타남을, Blackham¹⁸⁾, Lo¹⁹⁾등은 carrageenan 유도성 족부종에 COX 억제제가 LOX 억제제보다 더 효과가 있어 둘 사이의 구별에 유용하다고 보고하였으나 Smith²⁰⁾등은 LOX 억제제인 Sch 40120이 carrageenan 유도성 족부종에 효과가 있음을 보고하기도 하였다.

본 실험의 결과는 Fig. 2에 나타나 있다. EtOAc fr.과 BuOH fr. 투여군에서 3시간후 부터에 유의성 있는 부종의 감소가 나타나는 것으로 보아 bradykinin과 serotonin의 억제, 혹은 substance P와의 작용 등에 의해 carrageenan 유도성 염증의 초기상태에 효과가 있는 것으로 사료된다. 비록 piroxicam에는 미치지 못하지만 EtOAc fr.과 BuOH fr.에서 각각 부종 억제작용이 나타났다.

진통작용 - Writhing syndrome test에 대한 결과는 Fig. 3과 같이 0.7% Acetic acid 생리식염액의 복강주사에 의해 10분간 발생한 writhing syndrome이 대조군에서는 18.7회 발생하였으나 MeOH 추출물(1000 mg/kg)에서는 13.3회, EtOAc fr.에서는 7.3회, BuOH fr.(500 mg/kg)에서는 4.5회 그리고 대조약물인 piroxicam(3 mg/kg)에서는 4.7회로 BuOH fr.에서 아주 유의성 있는 진통효과를 나타내었다.

사염화탄소 유도 간독성 실험 - CCl₄에 의한 간독성은 microsome의 Cy p450에 의해 CCl₄가 trichlormethyl free radical($\cdot\text{CCl}_3$)을 생성하고 생성된 이 radical이 O₂와 반응하여 trichlormethyl peroxy radical($\cdot\text{CCl}_3\text{O}_2$)을 생성하며 이것이 미토콘드리아 등의 세포내 소기관의 lipid peroxidation을 유발하여 toxicity를 나타낸다고 알려져 있다. 또 미토콘드리아 내에서 생성된 trichlormethyl free radical($\cdot\text{CCl}_3$)는 미토콘드리아의 DNA에 공유결합하여 미토콘드리아의 구조와 기능에 직접 손상을 입히기도 하는 것으로 알려져 있다.^{21,22)} 혈청중 s-GPT, s-GOT를 측정된 결과 Fig. 4와 같다. GPT와 GPT측정값은 CCl₄독성군이 73.01와 100.20로 독성이 유도

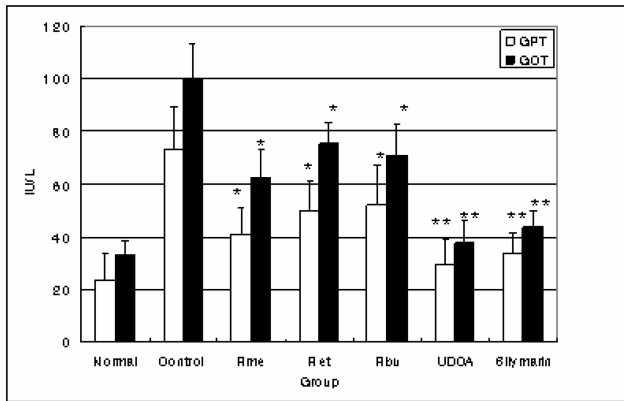


Fig. 4. The hepatoprotective effect on GPT, GOT in CCl₄-induced hepatotoxicity. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$); **Significantly different from the control group ($p < 0.01$). Rme: *Rumex crispus* MeOH Ex. REtO: *Rumex crispus* ethylacetate fraction Rbu: *Rumex crispus* butanol fraction, UDCA: Ursodeoxycholic acid.

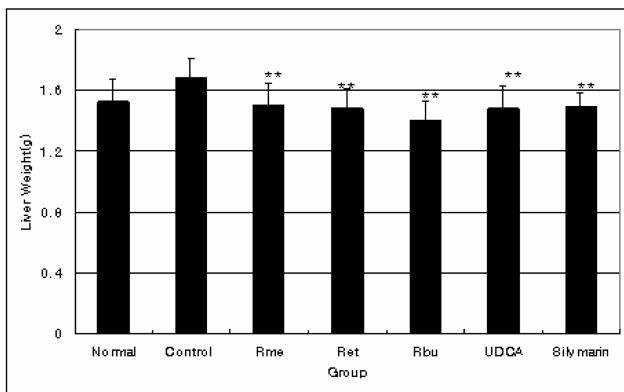


Fig. 5. Liver weight variations in CCl₄-toxicated mice. *Significantly different from the control group ($p < 0.05$); **Significantly different from the control group ($p < 0.01$). Rme: *Rumex crispus* MeOH Ex. REtO: *Rumex crispus* ethylacetate fraction Rbu: *Rumex crispus* butanol fraction, UDCA: Ursodeoxycholic acid.

됨을 확인하였고 MeOH 투여군이 41.09, 62.37이고, EtOAc fr.은 58.56, 75.12이고 BuOH fr.이 52.03, 70.58로 silymarin이나 UDCA에 미치지 못하는 약하게 간보호작용이 있었다.

간무게 측정에 있어 결과는 Fig. 5에서 MeOH ex. 투여군에서 1.5 g EtOAc fr.와 BuOH fr.투여군에서 각각 1.47과 1.40 g으로 silymarin과 UDCA 투여군인 1.49 g, 1.48 g 보다 효과가 좋음을 확인할 수 있었다.

결론

우리나라 전역에 걸쳐 자라는 소리쟁이(*Rumex crispus*)

종자의 MeOH 추출물(1000 mg/kg)과 BuOH fraction (500 mg/kg)으로 생리활성을 검색한 결과 다음과 같다.

1. Arachidonic acid(AA)를 이용한 염증반응의 실험과 Carrageenan 유도에 의한 부종실험에서 MeOH Ex. 1000 mg/kg에서 52.8%, EtOAc fr.과 BuOH fr.에서 각각 57.8 %, 59%의 유의성 있는 결과($p < 0.05$)를 확인하여 항염증작용이 있음을 확인하였다.

2. Carrageenan에서 유도된 부종은 시료 투여후 3-4시간대에 EtOAc fr.과 BuOH fr.에서 각각 control 대비 67%, 56.4%, 로 유의성 있게($p < 0.01$) 부종을 억제하였다.

3. Writhing syndrome test에 의한 진통작용실험은 BuOH fr.에서 control 대비 24%로 대조약물에 필적할 만큼 유의성 있는($p < 0.01$) 진통효과를 확인하였다.

4. 사염화탄소로 유발한 간보호실험에서 GPT값과 GOT 값 측정결과 EtOAc fr.과 BuOH fr.에서 효과가($p < 0.05$) 있음을 확인하였고 간의 무게에 있어서 전체 투여군에서 유의성 있는 효과($p < 0.01$)를 나타내었음을 확인하였다.

인용문헌

1. 이창복 (1982) 대한식물도감 향문사 서울 298.
2. 한국약용식물학 연구회 (2001) 종합약용식물학 학창사 서울 153.
3. 배기환 (2001) 한국의 약용식물학 교학사 서울 92.
4. Shanghai Science and Technological Publisher(1985), "The Dictionary of Chinese Drugs" Vol. 1 Shougakukan, Tokyo, p. 452.
5. Günaydin K, Topçu G, Ion RM (2002) 1,5-dihydroxyanthraquinones and an anthrone from roots of *Rumex crispus*. *Nat Prod Lett.* **16**: 65-70.
6. Kim JC, Choi GJ, Lee SW, Kim JS, Chung KY, Cho KY. (2004) Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest Manag Sci.* **60**: 803-808.
7. Yildirim A, Mavi A, Kara AA (2001) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem.* **49**: 83-89.
8. Hanan EB, Spindler JW (1968) Lectins in extracts of certain Polygonaceae seed precipitate animal and human serums. *Science.* **160**: 1462-1463.
9. Young, J. M., Spires, D.A., Bedord, C. J., Wagner, B., De Ballaron, S. J., Young, L. M. (1984) The mouse ear inflammatory response to topical arachidonic acid. *J. Invest. Dermatol.*, **82**: 367-371.
10. Rao, T. S., Currie, J. L., Shaffer, A. F., Isakson, P. C. (1993) Comparative evaluation of arachidonic acid(AA) and Tetradecanoyl phorbol acetate(TPA)-induced dermal inflammation. *Inflammation*, **17**: 723-741.

11. Winter, C. A., Risley E. A., Nuss, G. W.(1962) Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **111**: 544-547.
12. Whittle B.A. (1964) The use of changes in capillary permeability to distinguish between narcotic and analgesic. *Brith.J. Phamacol.* **22**: 246-253.
13. Mclean A.E. (1967) The effect of diet and vitamin E on liver injury due to carbon tetrachloride. *Br. J. Exp. Pathol.* **48**: 632-636.
14. Di Rosa, M. D., Giroud, J. P., 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.
15. Gilligan, J. P., Lovato, S. J., Erior, M. D. and Jeng, A. Y. (1994) Modulation of carrageenan-induced hind paw edema by substance P. *Inflammation*, **18**: 285-292.
16. Bileviciute, I., Lundeberg, T., Ekblom, A., Theodorsson, E. (1993) Bilateral changes of substance P-, neurokinin A-, calcitonin gene-related peptide- and neuropeptide Y-like immunoreactivity in rat knee joint synovial fluid during acute monoarthritis. *Neurosci. Lett.*, **153**: 37-40.
17. Bonta, I. L., Bult, H., Pamham, M. J. (1977) The presence of prostaglandin-like material in carrageenan-induced rat hind paw inflammation. *Br. J. Pharmacol.*, **60**: 290.
18. Blackham, A. Norris, A. A., Woods, F. A. M. (1985) Models for evalating the antiinflammatory effects of inhibitors of arachidonic acid metabolism. *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**: 787-793.
19. Lo, T. N., Saul, W. F., Lau, S. S.(1987) Carrageenan-stimulated release of arachidonic acid and of lactate dehydrogenase from rat pleural cells. *Biochem. Pharmacol.*, **36**: 2405-2413.
20. Smith, S. R., Watnick, A. W., Bryant, R. W., Billah, M., Siegel, M. I. (1992) Actions of a 5-lipoxygenase inhibitor, Sch 40120, on acute inflammatory responses. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **262**: 721-728.
21. Zhang, B. H, Gong, D. Z, Mei, M. H. (1999) Protection of regenerating liver after partial hepatectomy from carbon tetrachloride hepatotoxicity in rat. Role of hepatic stimulator substance. *J. Gasgroenterol. Hepato.*, **14**: 1010-1017.
22. Plaa, G. L, and Hewitt, W. R., (1989) Detection and evaluation of chemically induced liver injury. in, Principles and Methods of Toxicology, ed. by A. W. Hayes, pp. 599-628. Raven Press, New York.

(2007년 9월 18일 접수)