

Anti-arthritic Effect of Glucosamine and Oriental Herbal Composition

Seong-Wan Cho¹, Young Il Kim¹, Young-Jae Lee², Hyoung-Kwon Cho² and Young-Kwon Kim^{3,†}

¹Department of Pharmaceutical Engineering, Konyang University, Nonsan 320-711, Korea.

²Hanpoong Pharm. Research Center, JeonJu, 333-24, Korea. ³Department of Biomedical Laboratory Science, Konyang University, Daejeon 302-718, Korea

Abstract - This study was conducted to investigate the effect of an anti-inflammatory and analgesic action of the glucosamine HCl (Glucosamine) and SH-1 (Glucosamine + Oriental herbal composition combined group). Male sprague-Dawley rats (200~250 g) and ICR mice (20~30 g) were randomized and these experimental groups were divided into 4 groups. Two control group were given as negative control (saline) and positive control (Ibuprofen, 100 mg/kg) and two groups given as oral administration of Glucosamine (320 m/kg) and SH-1. Carrageenan induced paw edema test, hot plate method, croton oil induced granuloma, capillary permeability test and acetic acid writhing syndrome were also shown to be comparable in the SH-1 group to anti-inflammatory drug group such as positive control group (Ibuprofen). Although further studies should be performed to confirm the effects of SH-1, present results suggest that the combined administration of SH-1 have potential action in anti-inflammatory and analgesic action. It could be applicable for the improvement of arthritic symptoms as a new diet-supplement.

Key Words: Glucosamine HCl, Arthritis, Anti-inflammatory, Analgesic action

서 론

Glucosamine은 천연 아미노당의 하나로 무색 침상 결정으로 110°C에서 분해되며, 물에 녹는 강염기성 물질로서 생체 내에서는 결합조직과 피부조직, 연골, 관절액 등에 분포되어 있고 높은 보수성을 가지며 세포의 기능과 형태를 유지하고 세포접착, 증식, 분화 등 세포표면에 있어서 기능과 각 기관의 강도, 유연성, 탄력성을 갖는다. 사람의 혈액이나 점액 속에는 glucosamine과 결합한 단백질이 다량 함유되어 있으며, 적혈구의 세포막에는 이 당과 결합한 당지질로 존재한다 (Jeong et al., 2003). 또한 glucosamine은 자연계의 게, 새우 등의 갑각류의 외피를 탈 칼슘, 탈 단백화 시켜 키틴을 얻은 후 염산이나 황산으로 가수분해 후 탈색, 여과, 농축, 수세 등의 정제과정을 거쳐 비 스테로이드성 소염 진통제 (NSAIDs)의 천연

물질인 glucosamine hydrochloride와 glucosamine sulfate를 얻을 수 있다 (Kim, 1999). 관절에 대한 glucosamine의 생리기능은 연골조직의 구성성분인 glucosaminglycan (GAG)의 형성을 자극하며, 황이 연골로 통합되는 것을 촉진시킨다 (Crolle and Este, 1980; Macario et al., 1982). 나이가 들어갈수록 glucosamine의 형성이 충분하지 못하여 관절염의 형태로 질병이 나타나게 되고 이 관절염이 진행됨에 따라 통증과 염증을 수반하게 되며 무력증의 원인이 된다. 관절염은 활막의 활동성 만성 염증으로 수족이 뻣뻣하고 관절부위에 통증, 종창, 변형이 일어나 무릎이나 손가락에 피하결절까지 일으키는 것으로 알려졌다 (Claude et al., 1969; Vaz, 1982; Tsurumi et al., 1986). 류마티스성 관절에서 결합조직의 변화는 모세혈관의 손상 및 활막세포의 증식으로 시작되며 이때 결합조직 안쪽으로 림프구의 침윤이 생기면서 섬유 모세포 및 대식세포들이 증가하고 림프구와 단핵구의 세포성 면역반응이 강하게 일어난다. 관절염을 유발하는 cytokine에는 interleukin-1 (IL-1), tumor necrosis factor α (TNF- α), granulocyte/macrophage colony stimulating factor, interleukin-6 (IL-6) 등이 주로 대식세포나 섬유 모세포에서 생산되어 면역반응의 촉발에 관여하는 것으로 알려져 있다. 현재 시장에는 염증반응의

*논문 접수: 2008년 4월 11일

수정재접수: 2008년 6월 20일

†교신저자: 김영권, (우) 302-718 대전광역시 서구 가수원동 685, 건양대학교 의학관 519호, 임상병리학과
Tel: 042-600-6371, Fax: 042-600-6314
e-mail: ykkim3245@konyang.ac.kr

주요 증상인 발열, 발적, 동통, 부종 등의 치료를 위하여 NSAIDs를 많이 사용하는데 이러한 물질들은 위장 장애 등의 부작용으로 장기간 사용이 불가능하기 때문에 최근에는 부작용이 거의 없는 천연물질을 많이 선호하는 추세이다. 특히 glucosamine은 골관절염이나 상해로부터의 손상을 보수하기 위해 필요한 물질을 관절에 제공하며 소화기, 순환기내의 기초점막, 관절부위의 활액, 인대, 건을 포함한 신체조직의 대부분을 이루는 물질로서 연골조직인 glucosaminoglycan의 형성을 자극하여 관절을 유지하는데 도움을 주는 것을 이용하여 건강 보조식품으로 많은 제품들이 출시되어 있으며, 다른 유효성분과 혼합 투여하고 있지만 그 효능 및 약효에 대한 연구는 아직 많이 연구가 되어 있지 않은 실정이다. 본 실험에서는 glucosamine의 항염증 활성과 항 관절염 활성을 확인한 후 한방에서 전통적으로 어혈을 풀어주고 혈액순환을 도와주는 처방으로 알려진 소경활혈탕의 처방에 언급된 약용 생약물질 중 활성이 있는 것으로 여겨지는 물질들을 glucosamine과 혼합하여 복합제제를 제조한 다음 그 제제들의 항염증과 진통작용에 미치는 영향을 동물실험을 통해 glucosamine의 임상 활용에 대한 기초 자료로서 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시약

Carrageenan (Sigma. Co., USA), Evans blue (Sigma. Co., USA), Acetic acid (SamChun, 99.5%), glucosamine hydrochloride, 기타 시약은 시판특급 또는 1급을 사용하였다. 실험에 사용된 약용식물은 감초 (Glycyrrhizae Radix), 건강 (Ginger Zingiberis Rhizoma), 당귀 (Angelicae Gigangtis Radix), 백출 (Atractylodis Rhizoma Alba), 복령 (Hoelen), 우슬 (Achyranthis Radix), 작약 (Paeoniae Radix), 진피 (Citri Unshii Pericarpium), 천궁 (Cnidii Rhizoma), 숙지황 (Rehmanniae Radix Preparata) 등 총 10종으로서 (유)한풍 제약에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험동물 및 검액의 조제

체중 30 g 이상의 5주령 된 ICR계 웅성 생쥐와 체중 250 g의 Sprague - Dawley (SD)계 웅성 흰쥐를 1주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였고 사육 시에는 사료 및 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다. 동물실내 (22~25℃)의 명암은 12시간씩 조절시켰으며, 실내온도는 일

Table 1. The formulation of SH-1 complex (Glucosamine: total other oriental composition ratio = 2.28:1)

Formulation of SH-1	Formulation Ratio (%)
Glycyrrhizae Radix	5.5
Ginger Zingiberis Rhizoma	8.4
Angelicae Gigangtis Radix	11.1
Atractylodis Rhizoma Alba	11.1
Hoelen	11.1
Achyranthis Radix	8.4
Paeoniae Radix	13.8
Citri Unshii Pericarpium	8.4
Cnidii Rhizoma	11.1
Rehmanniae Radix Preparata	11.1

정온도를 유지하였다. 실험군은 I군 (음성대조군, Saline 투여 group), II군 (양성대조군, ibuprofen 투여군), III군 (glucosamine 투여 group), IV군 (SH-1, glucosamine + 생약 복합제제 투여군)으로 나누어 실험하였다. SH-1의 조성은 Table 1과 같으며 검체는 생리식염수에 현탁하여 경구로 투여하고 음성대조군은 시험군과의 조건을 동일하게 하기 위하여 생리식염수만을 경구로 투여하였다.

3. Carrageenan에 의한 항부종작용

Carrageenan에 의한 항부종실험은 Winter 등의 방법에 따라서 실시하였다 (Winter et al., 1962, Winter and Flataker, 1965). 체중 240 g의 SD Rat을 6시간 절식시킨 뒤, 뒷발의 용적 (Vn)을 측정 후 부종 유발제인 2% carrageenan - 생리식염액 0.15 ml를 뒷 발바닥에 피하주사하고, 30분 후 부종이 유발된 것을 확인하고 난 후, 조제한 검체를 경구 투여하고, 30분 후부터 1시간 간격으로 4회에 걸쳐 뒷발의 용적을 측정하였다. 부종증가율 (%)은 부종 유발 전의 용적 (Vn)을 기준으로 하여 그 증가율을 아래의 식 (1)으로 계산하였다. 양성대조군으로서는 ibuprofen 100 mg/kg을 경구 투여하고 음성대조군은 생리식염수만을 투여하여 비교 검정하였다.

$$\text{부종증가율 (\%)} = \frac{V_t - V_n}{V_n} \times 100 \quad \text{----- (1)}$$

Vn : carrageenan 주사전의 발의 용적

Vt : carrageenan 주사 일정시간 후의 발의 용적

4. 초산유발 writhing syndrome 억제작용

5주령의 ICR계 웅성 생쥐 (25~30 g)를 공급받아 1주

일 후 Koster의 방법에 따라 Writhing syndrome 억제실험을 실시하였다 (Koster et al., 1959). 실험 방법은 검체를 경구 투여하고 30분 후에 0.7% 초산-생리식염용액을 생쥐 몸무게 10 g 당 0.1 ml 씩 복강 내에 주사하고 0~5분, 5~10분, 10~15분간에 나타나는 writhing 증상의 발생 수를 계수하였다.

5. 열판법 hot plate method에 의한 진통시험

Hot plate method에 의한 진통시험은 35 g의 ICR mouse를 사용하여 Setnikar 등의 방법에 따라 실시하였다 (Setnikar et al., 1991). Hot plate method란 열감에 대한 실험동물의 반응 정도를 조사하는 것으로서 수욕의 온도를 52~54°C로 유지하고 그 안에 열판장치를 담그고 움직이지 않도록 고정된 후 mouse의 꼬리를 잡고 네 다리를 장치의 밑바닥 (52~54°C의 열판)에 조용히 넣고 mouse가 열판위에 접촉함과 동시에 stop-watch를 눌러서 작용을 관찰하여 발바닥을 허로 핏거나 뛰어오를 때까지의 시간(초)을 측정하였다. 측정은 실험동물의 화상방지를 위하여 40초를 cut-off로 하였으며, 처음에는 뛰어오르는 반응이 늦으므로 훈련함에 따라 반응이 단축되어 거의 일정하게 될 때 (약 5초 전 후) 그 후 3번 정상반응을 측정하고 다음에 mouse의 체중을 측정하고 각각 약용량을 투여한 후 15분 간격으로 4회 측정하여 식 (2)에 의해 결과를 산출하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \frac{\text{실험군 jump} - \text{대조군 jump}}{40\text{초(cut-off)} - \text{대조군 jump}} \times 100 \quad \text{----- (2)}$$

6. 모세혈관 투과성 억제작용

체중 32~34 g의 웅성 생쥐를 이용하여, 검체가 단백질 친화성 색소인 Evans blue의 모세혈관 투과성에 미치는 영향을 검토하였다 (Whittle, 1964; Parks and Pickens, 1965). 웅성 생쥐에 약물을 조제한 검체를 경구 투여한 30분 후에 0.7% 초산 - 생리식염액을 생쥐 몸무게 10 g당 0.1 ml 씩 복강 내에 주사하여 혈관 투과성을 증대시키고, 30분 후에 evans blue 1%액 0.1 ml씩을 꼬리에 정맥주사하고 30분 후 복강 액을 채취하여 원심분리 (3,000 rpm, 10분)한 다음, 610 nm 자외선 흡수 스펙트럼 하에서 혈관 투과성의 정도를 검정하였으며, 양성 대조약물로는 ibuprofen을 경구 투여하여 비교 검정하였다. 투과성 억제율은 다음의 식 (3)에 의해 계산하였다.

$$\text{투과성 억제율 (\%)} = \frac{\text{대조군의 혈관 투과량} - \text{검액군의 혈관 투과량}}{\text{대조군의 혈관 투과량}} \times 100 \quad \text{----- (3)}$$

7. 항염증 억제작용

육아종 시험은 110~150 g의 SD Rat을 모델 동물로 선정하여 실시하였다 (Ishikawa et al., 1968; Sedgwick and Lees, 1986). Rat의 등 뒤 피부에 20 ml의 공기를 주입시켜 공기주머니를 형성시키고 olive oil에 croton oil를 넣어 1% 용액을 만든 후 ether 마취시켜 공기주머니에 1% 용액 0.5 ml를 주사하여 염증이 유발된 육아종을 형성시켰다. 일주일 동안 경구 투여를 한 후 8일째 Rat을 희생시킨 후 주머니를 절개하고 그 후 시험관에 삼출액을 모으고, 육아종 조직을 분리시켜 그 무게를 측정하였다.

8. 통계처리

모든 실험 결과는 평균 ± 표준오차 (mean ± S.E.)로 계산하였다. 각 군 간의 유의성 검정은 Student's t-test를 사용하였고, P 값이 5% 미만일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. Carrageenan에 의한 항부종작용

Carrageenan 유발 생쥐 부종실험에 대한 투여군의 억제효과에 대한 영향을 실험한 결과 경구 투여 후 glucosamine을 단독으로 투여한 경우와 glucosamine 복합제제인 SH-1을 투여한 경우 모두 대조군에 비하여 효과를 나타냄을 알 수 있었으며, 글루코사민 복합제제 (SH-1)를 투여한 경우에는 30분이 지난 후부터 27.67 mm에서 20.73 mm로 부종의 정도가 대조군에 비하여 유의성 있는 억제작용을 나타내기 시작하여 지속적인 부종 억제를 관찰할 수 있었으며 진통, 소염효과를 가진 약물인 ibuprofen을 투여한 군과 비슷한 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다 (Table 2). Glucosamine을 단독으로 투여한 군의 경우에는 90분이 지나면서 26.20 mm에서 21.59 mm로 서서히 부종이 억제됨을 알 수 있었는데 한편 생리식염수만을 투여한 대조군에서는 270분이 지난 후에도 부종이 약간 감소되는 경향을 보이긴 했지만 그 감소의 변화가 거의 없는 것을 관찰할 수 있었다. 이런 결과로 미루어 볼 때 glucosamine과 생약의 복합 투여제

Table 2. The anti-edematous effect of glucosamine, SH-1 in carrageenan induced paw edema in rats (n=5, mean ± S.E.)

Experimental group	Increase Percent of Paw Volume (mm)					
	0 min	30 min	90 min	150 min	210 min	270 min
Control	27.68±0.59	26.43±0.67	22.94±0.52	30.76±0.90	25.13±0.68	24.22±0.41
Ibuprofen	28.62±1.15	19.21±0.96*	14.93±1.11*	15.58±0.85*	14.58±0.84*	13.04±0.58*
Glucosamine	27.65±0.70	26.20±0.83	21.59±1.18	24.21±0.63*	20.05±0.95*	16.31±0.86*
SH-1	27.66±1.38	20.73±0.65*	16.46±0.27*	20.06±0.80*	16.65±0.55*	13.27±0.64*

* Significantly different from the control group at $P < 0.05$

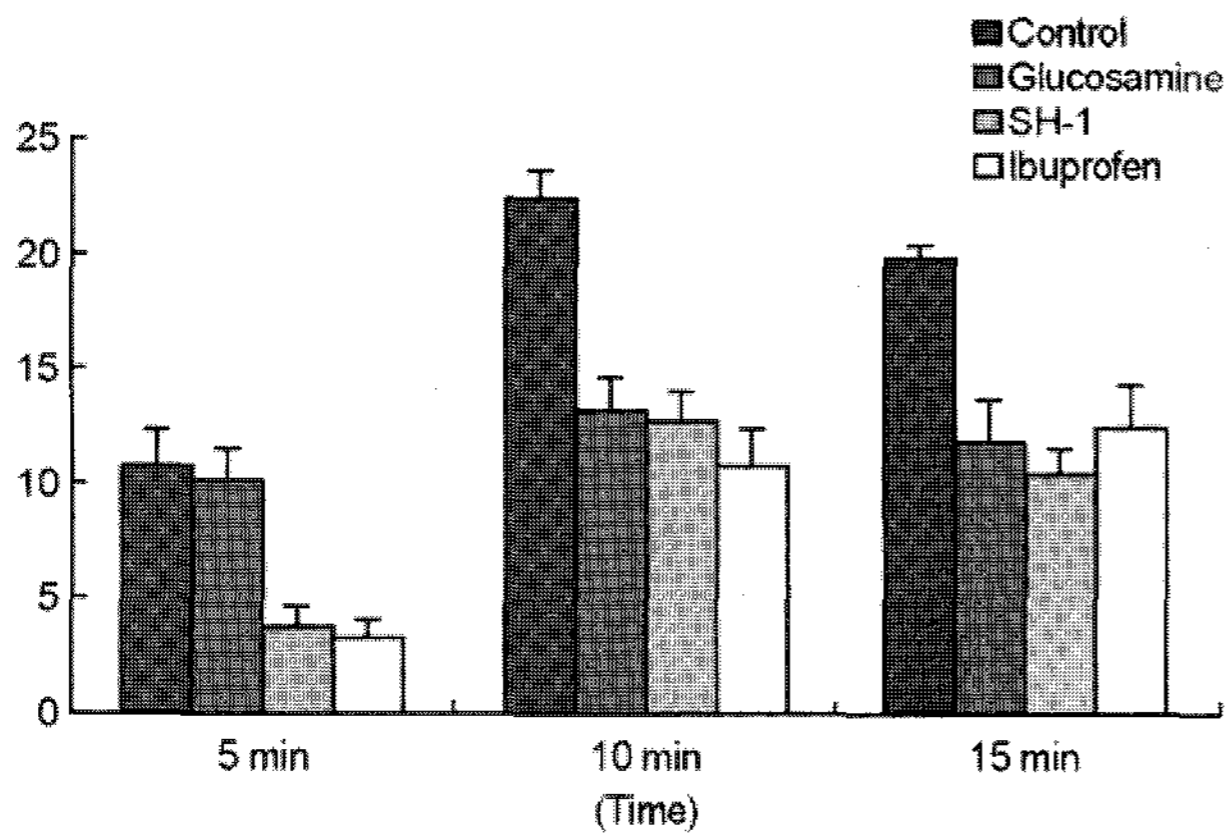


Fig. 1. The analgesic effect of oral administrations on acetic acid induced writhing syndrome in mice (n=4, mean ± S.E.). Y axis means number of writhing.

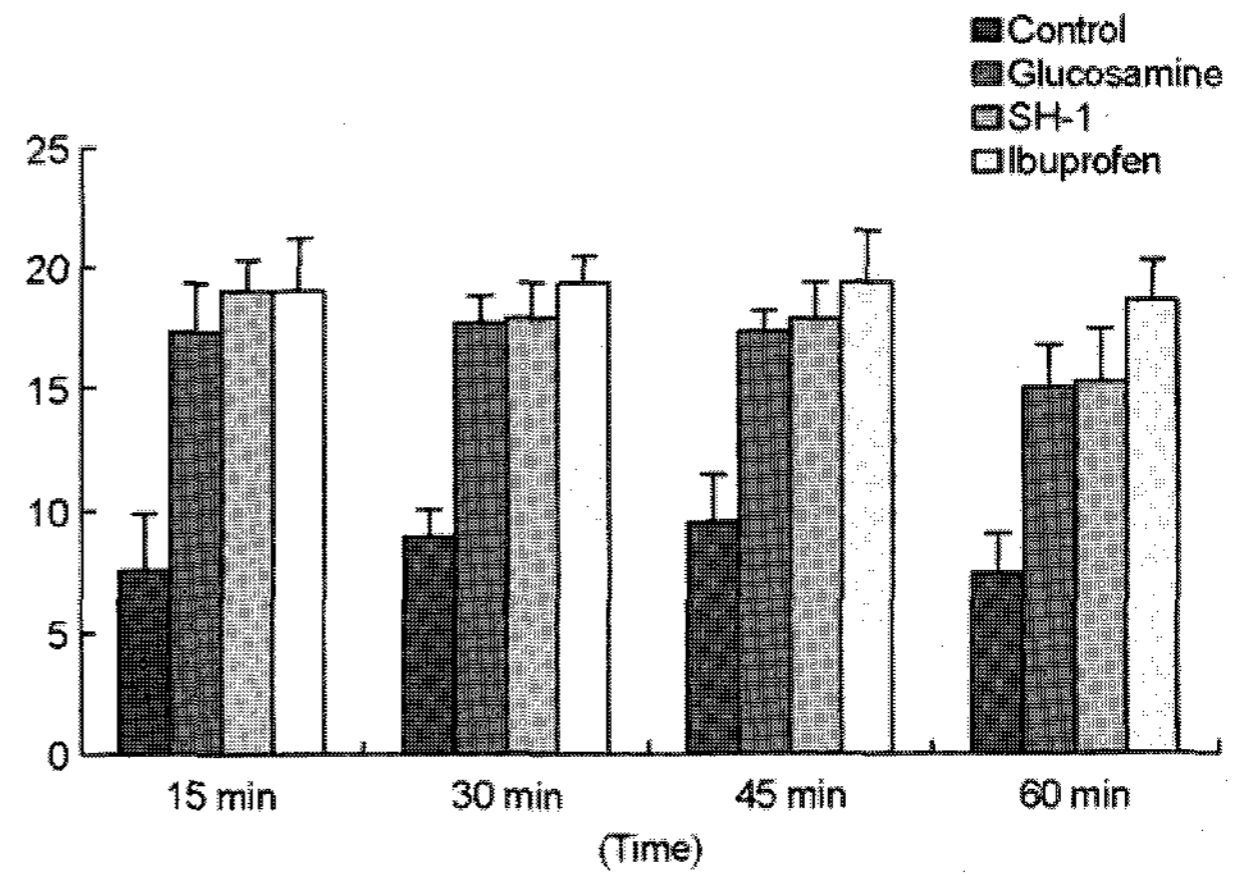


Fig. 2. Effect of glucosamine, SH-1, ibuprofen on pain sensitivity measured by hot plate method in mice (n=4, mean ± S.E.). Y axis means jump latency (sec).

제인 SH-1이 glucosamine의 단독 투여보다는 훨씬 더 빠른 속도로 부종을 억제하는 효과를 가져 온다는 것을 확인할 수 있었으며, 특이한 것은 모든 군에서 carrageenan 투여 후 2시간이 지난 후 일시적으로 부종의 크기가 증가 하였다가 다시 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 일반적으로 carrageenan 유발 부종의 경우에는 주사 직후부터 부종이 발생하여 30분 정도에서 peak에 도달한 후 소실하는 1상과 주사 후 한 시간 이후부터 부종이 발생하여 장시간에 걸쳐 지속되는 제 2상의 부종 형성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 특히 Randall et al과 Willoughby는 부종의 원인이 carrageenan 주사 후 1.5시간까지는 histamine과 serotonin이, 2.5시간까지는 kinin 류가, 2.5시간 이후로는 arachidonic acid의 cyclo-oxygenase에 의한 대사산물인 prostaglandin 류가 관여하는 것으로 보고하였다 (Randall et al., 1971; Willoughby, 1971). 이러한 부종 유발 물질은 시간이 지남에 따라 분비되는 양의 차이에 따라 일시적인 부종의 증가를 나타내는 것으로 사료된다.

2. 초산유발 writhing syndrome 억제작용

초산을 복강 내 투여하여 통증을 유발시킨 후부터

writhing syndrome의 발생 수를 계수하였을 때 초산에 의한 writhing syndrome은 10분 이후에서 큰 차이를 보이기 시작하여 glucosamine 단독 투여군과 SH-1 투여군의 경우 ibuprofen을 투여한 군과 비슷한 억제작용을 나타내기 시작하여 특히 15분에서는 glucosamine 복합제제인 SH-1이 가장 우수한 통증 억제효과를 나타내었다 (Fig. 1). 이 결과 glucosamine을 단독으로 투여하였을 경우 보다는 혼합제제인 SH-1을 투여한 경우가 더 우수한 통증 억제효과를 나타내었다. 이 결과는 SH-1에 있는 성분들이 복합적으로 glucosamine의 통증 억제효과를 상승시킬 수 있는 역할을 하는 것으로 생각되며 향후 이들의 진통작용의 반응과정과 안정성을 확인하기 위한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

3. 열판법 (hot plate method) 에 의한 진통시험

초산에 의한 writhing syndrome과는 또 다른 진통효과 측정실험인 hot plate method에 의하여 검체를 투여하였을 때의 진통효과를 검토하였다 (Fig. 2). 생리식염수만 투여한 음성대조군의 경우에는 초기 15분에 7초도 참지 못하고 생쥐가 반응하였으나 시험군인 검체를 투여하게

되면 15초가 지나도 발바닥을 혀로 핥거나 뛰어오르는 반응을 나타내지 않는 것으로 확인되어 glucosamine과 SH-1을 투여한 경우 모두 초기 15분부터 대조군에 비하여 진통효과가 매우 우수하게 나타나게 됨을 관찰할 수 있었으며 특히 SH-1을 투여한 경우에는 glucosamine만을 투여한 경우보다 진통효과가 우수하여 복합제제의 투여가 glucosamine과의 상승작용에 의하여 glucosamine을 단독으로 투여하는 것 보다는 더 좋은 진통효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. 한편 진통 소염제로 사용되는 ibuprofen을 투여하였을 때는 초기 15분에 19초까지 반응하지 않음으로서 투여군 중에서 가장 우수한 진통효과를 나타냄을 관찰할 수 있었으며 60분까지도 매우 우수한 진통효과가 지속되었다.

4. 모세혈관 투과성 억제작용

초산을 복강 내 주사한 후 색소인 evans blue를 투여하여 복강 내로 투과되는 색소의 양이 검체 투여 후 억제하는 정도를 관찰한 결과 대조군이 투여군에 비해 glucosamine 단독 투여의 경우에는 33.19%, SH-1의 투여의 경우에는 46.72%의 억제율을 보인데 비하여 양성대조군인 ibuprofen에서는 9.17%의 억제율을 나타내는 것으로 보아 모세혈관 투과를 억제하는 효능에서 glucosamine 복합제제 (SH-1)가 glucosamine을 단독으로 투여한 경우나 ibuprofen을 투여한 군보다 효과가 훨씬 더 우수함을 관찰할 수 있었다 (Table 3). 이는 급성 염증반응의 제 1기 즉, 국소자극에 의한 조직 장애가 오고, 혈관 내피세포의 변화로 혈관이 확장되고 혈관 투과성이 항진되는 시기에 혈액순환을 원활하게 도와주는 생약들을 포함한 SH-1의 투여가 검체에 의한 모세혈관 투과성을 억제시

Table 3. The effect of glucosamine, SH-1, ibuprofen administrations on vascular permeability in mice (n=4, mean \pm S.E.)

Experimental group	Evans blue (ppm)	Inhibition (%)
Control	9.40 \pm 0.35	-
Ibuprofen	9.12 \pm 0.56	9.17
Glucosamine	7.31 \pm 0.30*	33.19
SH-1	5.79 \pm 0.24*	46.72

* Significantly different from the control group at $P < 0.05$

Table 4. The effect of glucosamine hydrochloride, SH-1, ibuprofen on granuloma induced by croton oil in rats (n=4, mean \pm S.E.)

Experimental group	Control	Ibuprofen	Glucosamine	SH-1
Wet weight of Granuloma (g/100 g)	6.25 \pm 0.82	4.36 \pm 0.63	5.46 \pm 0.56	3.66 \pm 0.78*

* Significantly different from the control group at $P < 0.05$

키는데 많은 기여를 하는 것으로 생각된다 (Willoughby, 1971).

5. 항염증 억제작용

육아종 형성 후 검체를 투여하고 일정 시간이 지난 후 그 무게를 비교하는 방법은 급성과 만성 사이의 형태의 염증 모델로서 일주일 동안 검체를 경구 투여한 결과 glucosamine을 단독으로 투여한 경우와 ibuprofen을 투여한 경우 항염증 효과는 있었지만 대조군에 비하여 유의적인 억제효과를 나타내지는 못하였다. 그러나 glucosamine 복합제제인 SH-1에서는 가장 강한 항염증 작용을 나타내면서 통계학적으로 유의적인 차이를 나타내었는데 이것은 SH-1에 포함된 생약의 유효성분들이 glucosamine의 효능을 도와 어혈을 없애고 염증을 가라앉게 하여 육아종의 형성을 억제하는데 많은 역할을 하고 있는 것을 알 수 있었다 (Table 4).

고 찰

본 실험에서는 glucosamine과 어혈을 풀어 주고 혈액순환을 도와주는 것으로 알려져 있는 소경활혈탕의 유효성분을 혼합 투여하여 carrageenan 유발 부종의 항염증 작용과 모세혈관 투과성 억제작용, 육아종 형성 억제시험, hot plate method, 진통억제 정도를 측정하는 writhing syndrome의 효과를 측정하였다. 염증은 외부의 자극으로부터 시작하여 결국 치유에 이르는 반응으로 조직 장애에 대한 방어 및 회복을 위한 반응이라고 볼 수 있다.

염증의 4가지 주요한 증상은 발적, 종창, 열감, 동통이라고 할 수 있는데 염증의 원인으로는 물리적 자극, 화학적 자극과 같은 외부적 인자나 각종 병원성 미생물에 의한 감염과 항원의 감각반응에 의한 알레르기 반응 등이 있다. 부종은 모세혈관 투과성이 항진되어 혈장성분이 혈관 외로 누출되어 나타나는 증상으로 염증의 초기 단계인 모세혈관 투과성에 미치는 작용에 의해 항염증 효과를 검증할 수 있다 (Jeong et al., 2003), 따라서 혈관 투과성 항진의 염증 병태모델의 작성을 위하여 염증유발 물질로써 acetic acid를 투여하고, 투과성 항진의 지표로

복강 내로 유출하는 Evans blue의 색소량을 사용하였다. 대조약과 glucosamine, SH-1에 대한 초산유발 생쥐 모세혈관 투과성에 대한 영향을 실험한 결과, 각 검체는 대조군과 비교하여 glucosamine과 SH-1 각각 33.19% 및 46.72%의 우수한 억제율 및 유의성 있는 차이를 보였다 (Table 3).

Carrageenan은 해조류부터 얻을 수 있는 sulfated polygalactan으로, 특히 λ -carrageenan은 대식세포에 대한 선택적 독성작용에 의해 급·만성 염증을 일으키는 특성과 plasmin을 활성화시켜 kinin의 생성을 항진시키는 특성이 있는데 (Bonney et al., 1978) carrageenan에 의해 염증부종을 유발하여 검체를 투여한 결과 SH-1의 경우에는 30분 이후에 부종 억제작용을 나타낸 후 지속적인 우수한 부종 억제작용을 나타냄을 알 수 있었다. 또한 초산을 복강내 투여하여 통증을 유발시킨 후부터 writhing syndrome의 발생 수를 계수하였을 때 10분 이후에서부터 큰 차이를 보이기 시작하여 glucosamine 단독 투여 시와 SH-1의 경우에는 ibuprofen과 비슷한 억제작용을 나타내었으며, 15분에서는 glucosamine 복합제제인 SH-1이 가장 우수한 억제효과를 나타냄을 알 수 있었다. 또한 일반적으로 사용되고 있는 급성과 만성염증의 중간 형태의 염증 모델에서는 염증으로 인한 삼출물의 증가를 억제하는 효과를 측정하는 육아종 형성시험에서도 SH-1이 가장 유의성 있는 항염증 작용을 나타내었다.

진통억제실험의 또 다른 형태인 hot plate method의 경우에는 음성대조군인 생리식염수만 단독 투여의 경우에 초기에 생쥐가 매우 빠르게 반응하였으나 시험군을 투여한 경우에 15초가 지나도 발바닥을 혀로 핥거나 뛰어오르는 반응을 나타내지 않는 것으로 보아 진통효과가 있음을 관찰할 수 있었으며 특히 실험이 진행되는 동안 시중에서 진통 소염제로 사용되는 ibuprofen을 투여하였을 때 19초까지 반응하지 않음으로서 열에 의한 진통효과는 ibuprofen이 오히려 glucosamine이나 SH-1보다 더 우수한 효과를 얻을 수 있음을 관찰할 수 있었는데 진통실험의 대표적인 예라고 할 수 있는 hot plate method는 소염 진통제에서 마약성 진통제까지 넓게 적용시킬 수 있는 시험법으로서 마약성 진통제는 정상발과 염증발, 양쪽의 역치를 모두 상승시키지만, 말초에만 작용점을 가지는 소염 진통제는 염증발의 동통 역치만을 상승시키는 것으로 알려져 있다.

Glucosamine과 복합체인 SH-1 투여군에서의 진통효과는 발바닥의 부종이 육안으로 확인하기에도 현저히 감

소되는 것으로 미루어 보아, cyclo-oxygenase의 저해에 의한 prostaglandin의 감소에 의해 진통효과를 나타내는 ibuprofen과는 다른 기전인 항염증 작용을 통한 진통효과인 것으로 사료된다. 한방에서 소경활혈탕은 전통적으로 어혈을 풀어주고 혈액순환을 도와주는 처방으로 알려져 있으며, 직접적인 통증억제작용 보다는 혈액순환 증가에 따라 glucosamine의 작용을 상승시켜 진통작용을 상승시켰을 것으로 사료된다. 예비실험에서 단독으로 SH-1의 유효성분만을 투여했을 경우 진통, 소염 효과에서 유의성 있는 결과를 관찰할 수 없었으나 glucosamine과 유효성분을 혼합 투여한 SH-1을 투여하면 glucosamine을 단독으로 투여한 경우보다 더 좋은 진통, 소염작용을 나타내었다. 특히 모세혈관 투과성 억제작용에서는 대조군과의 큰 차이를 나타내면서 그 효과를 입증하였다.

결론적으로 glucosamine 자체를 투여하여도 항염증, 진통효과를 가지는 것으로 알려졌지만 glucosamine 단독 사용보다 glucosamine과 전통적으로 효과가 있는 것으로 알려진 성분들을 혼합시킨 복합제제가 그 효과를 높이는 것으로 판단되며 특히 진통효과보다 염증반응을 감소시키는 데 탁월한 효과가 있음을 알 수 있었다. 이러한 유효성분들은 glucosamine을 주재료로 하는 관절 보호 및 진통, 소염제의 개발에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각되며 향후 진통 및 항염증 효과를 나타내는 메커니즘을 규명하는 연구가 추가적으로 수행되어야 할 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Bonney RJ, Gery I, Lin TY, Meyenhofer MF, Acevedo W, Davies P. Mononuclear phagocytes from carrageenan-induced granulomas. Isolation, cultivation, and characterization. *J Exp Med.* 1978. 148: 261-275.
- Crolle G, D'Este E. Glucosamine sulphate for the management of arthrosis: a controlled clinical investigation. *Curr Med Res Opin.* 1980. 7: 104-109.
- Ishikawa H, Niinobe S, Tsurufuji S. Studies on the mode of action of anti-inflammatory agents. I. Quantitative analysis of anti-inflammatory effects by carboxymethyl cellulose pouch method. *Yakugaku Zasshi.* 1968. 88: 1472-1477.
- Jeong CS, Hyun JE, Kang MH, Sim JS, Son MJ, Jung SH, Kim JH, Lee KS, Kim YS. Anti-arthritic Effect of a New Diet-Supplement Containing Red Ginseng Extract and Glucosamine Complex. *Kor J Pharmacogn.* 2003. 34: 327 -334.

- Kim OK. Effects of Glucosamine Hydrochloride, Taurine and Their Combined administration on Anti-inflammatory and Analgesic Action in Rats. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 1999. 28: 1113-1123.
- Koster R, Anderson M, Debeer EJ. Acetic acid for analgesic screening. *Fed Proc*. 1959. 18: 412-418.
- Parks MW, Pickens JT. Conditions influencing the inhibition, by analgesic drugs, of the response to intraperitoneal injections of phenylbenzoquinone in mice. *Brit J Pharmacol*. 1965. 25: 81-87.
- Randall LO, Selitto JJ. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Int Pharmacodyn Ther*. 1971. 111: 409-419.
- Sedgwick AD, Lees P. A comparison of air pouch sponge and pleurisy models of acute carrageenan inflammation in the rat. *Agents Actions* 1986. 8: 439-446.
- Setnikar I, Pacini MA, Revel L. Antiarthritic effects of glucosamine sulfate studied in animal models. *Arzneimittelforschung* 1991. 41: 542-545.
- Tapadinhas MJ, Rivera IC, Bignamini AA. Oral glucosamine sulphate in the management of arthrosis: report on a multi-centre open investigation in Portugal. *Pharmatherapeutica*. 1982. 3: 157-168.
- Tsurumi K, Mibu H, Okada K, Hasegawa J, Fujimura H. Pharmacological investigation of the new anti-inflammatory agent. *Arzneim Forsch*. 1986. 36: 1806-1809.
- Whittle BA. The use of changes in capillary permeability in mice to distinguish between narcotic analgesics. *Brit J Pharmacol*. 1964. 22: 246-253.
- Willoughby DA. Human arthritis applied to animal models. Towards a better therapy. *Ann Rheum Dis*. 1971. 34: 471-478.
- Winder CV, Lembke LA, Stephens MD. Comparative bioassay of drugs in adjuvant-induced arthritis in rats: flufenamic acid, mefenamic acid, and phenylbutazone. *Arthritis Rheum*. 1969. 12: 472-482.
- Winter CA, Risley EA, Nuss GW. Carrageenan induced edema in hind paw of the rats as an assay for anti-inflammatory drugs. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1962. 111: 544-547.
- Winter CA, Flataker L. Reaction thresholds to pressure in edematous hindpaw of rats and responses to analgesic drugs. *J Pharmacol Exp Ther*. 1965. 150: 165-171.
- Vaz LA. Double-blind clinical evaluation of the relative efficacy of ibuprofen and glucosamine sulphate in the management of osteoarthritis of the knee in outpatients. *Curr Med Res Opin*. 1982. 8: 145-149.