

Formalin으로 유도된 통증 모델에서 太谿穴(KI3)의 원엽 모고채(*Drosera rotundifolia* L.) 약침의 진통효과

오세정¹, 김재수¹, 이윤규¹, 이현종^{1,*}

¹대구한의대학교 한의과대학 침구학과



[Abstract]

Analgesic Effects of *Drosera rotundifolia* L. Pharmacopuncture at Taeye(KI3) Acupoint on Formalin-induced Pain

Se Jung Oh¹, Jae Soo Kim¹, Yun Kyu Lee¹ and Hyun Jong Lee^{1*}

¹Department of Acupuncture & Moxibustion Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Objectives : The objective of this study is to evaluate the analgesic effects of *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture on formalin-induced pain in Sprague-Dawley(SD) rats.

Methods : In this experiment there were four groups, each with six SD rats. In the normal group (NOR), normal saline 40 μL was injected at right KI3, and normal saline 40 μL was injected at right hindpaw 35 minutes later. In the control group (CON), normal saline 40 μL was injected at right KI3, and formalin 5 % 40 μL was injected at right hindpaw 35 minutes later. In the *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 3 % group (DP3), *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 3 % 40 μL was injected at right KI3, and formalin 5 % 40 μL was injected at right hindpaw 35 minutes later. In the *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 5 % group (DP5), *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 5 % 40 μL was injected at right KI3, and formalin 5 % 40 μL was injected at right hindpaw 35 minutes later. We analyzed ultrasonic vocalization (USV), Substance P, aspartate aminotransferase(AST), and alanine aminotransferase(ALT).

Results : In the early phase of USV, both DP3 and DP5 had an analgesic effect. In the late phase, DP5 had an analgesic effect compared to CON. Substance P in DP5 was significantly decreased compared to CON. In regards to blood AST and ALT, there was no significant difference among NOR, CON, DP3 or DP5.

Conclusion : These results suggest that *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture helps to reduce formalin-induced pain. Its mechanism is related to substance P, and *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture has no influence on liver toxicity.

Key words :

Drosera Rotundifolia L.
 Phamacopuncture ;
 Analgesic effect ;
 Formalin-induced pain ;
 Taeye(KI3)

Received : 2016. 02. 12.
 Revised : 2016. 03. 03.
 Accepted : 2016. 03. 08.
 On-line : 2016. 03. 18.

* Corresponding author : Department of Acupuncture & Moxibustion medicine, Daegu Oriental Hospital of Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 706-828, Republic of Korea
 Tel : +82-53-770-2115 E-mail : whiteyou@nate.com

I. 서론

통계청에서 발표한 한방의 '질병소분류별 다빈도 상병 급여현황'을 살펴보면 1위가 등통증이었으며, 10위 내에 있는 상병 대부분이 목, 어깨, 허리, 골반, 무릎, 발목 등의 통증과 관련이 있다¹⁾. 이처럼 많은 통증 환자가 한의학적인 치료를 받고 있으며 통증 경감을 위한 전통적인 치료법으로 침, 한약, 뜸, 부항 등이 사용되었다. 박 등²⁾은 한방의료의 통증치료 실태에 대하여 설문 조사한 결과, 치료방법 중 침이 가장 많이 사용되며, 두통, 복통, 관절염, 신경병증성 통증에서는 한약이, 염좌, 요통에는 사혈이 두 번째로 많이 사용되었다고 보고하였다.

최근에는 전통적인 치료법을 비롯하여 약침요법, 추나요법, 매선요법 등이 사용되고 있다. 그 중 약침요법은 보다 효과적인 치료를 위해 20세기 말부터 본격적으로 등장한 치료법이다. 침요법이 경락, 경혈을 통하여 물리적 자극을 전달하는 치료법이라면, 약침요법은 자침의 물리적 자극과 한약의 기미를 포함한 약물의 효능 및 화학적 자극을 부가시킨 방법이다. 근골격계 질환 등에서 시술 후 통증 및 증상이 빠르게 개선되고 원하는 부위에 주입이 가능하므로 짧은 시간에 시술이 종결되어 활용도가 높으며 대부분의 약재를 약침으로 조제할 수 있다는 장점을 가지고 있다³⁻⁵⁾. 양 등⁶⁾은 퇴행성 슬관절염 환자를 봉약침 치료군과 온침 치료군으로 나누어 임상시험을 한 결과 봉약침 치료군에서 진통효과가 더 높았음을 보고하였다. 이⁷⁾의 연구와 구⁸⁾의 연구에서는 봉약침과 옹공약침을 사용하여 각각 좌골신경 손상과 수근관 증후군 치료에서의 효과를 보고하였고, 박 등⁹⁾은 봉약침과 자하거약침 시술로 호전된 횡단성 척수염 환자에 대하여 보고하였다. 그러나 봉약침의 경우 간혹 과민반응으로 호흡곤란, 식은땀, 어지럼증 등을 호소하며 옹공약침, 자하거약침을 비롯한 기타 약침의 경우에도 환자에 따라 심한 발적, 가려움 등을 호소한다. 따라서 다양한 약침의 개발로 환자의 상태에 맞는 약침을 사용할 필요가 있다⁵⁾.

원엽 모고채(*Drosera rotundifolia L.*)는 모고채과 식물인 원엽 모고채의 전초이다. 식충 식물인 긴 잎 끈끈이 주걱으로 알려져 있으며 긴 잎의 털에서 분비되는 점액에 벌레가 붙으면 서서히 단백질을 분해하여 양분으로 흡수시킨다. 민간에서는 전초를 달여 가래, 천식, 폐결핵, 동맥경화증 등에 사용하였으며 중국에서는 腸炎, 痢疾, 咽喉腫痛, 肺熱咳嗽, 咯血, 衄血, 小兒疳積 등에 사용해 왔다는 기록이 있다^{10,11)}. Melzig 등¹²⁾, Fukushima 등¹³⁾은 원엽 모고채 추출물의 항염증 효과에 대한 보고를 하였으나 원엽 모고

채의 진통효과에 대한 연구가 많지 않으며, 국내에서는 원엽 모고채에 대한 연구가 미미하다.

이에 저자는 원엽 모고채 약침이 갖는 진통효과를 확인하고자 formalin으로 통증이 유도된 모델의 太谿穴에 원엽 모고채 약침을 주입한 후 Ultrasonic vocalization (USV), Substance P 활성화도, Aspartate aminotransferase(AST) 및 Alanine aminotransferase(ALT) 측정 을 통해 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

체중 250~270 g인 7주령 수컷 Sprague-Dawley(SD) rat(Hyochang Science, Daegu, Korea)을 구매하여 lab-chow 식이(Jeil Feed LTD, Gyeonggi, Korea)로 일주일 동안 안정화시킨 후 24마리를 이용하였다. 사육 기간 동안 사육실 온도는 24 °C, 상대 습도는 55 %를 유지시키고 오전 8시에서 오후 8시까지 12시간 간격으로 light cycle을 유지하였다. 실험동물의 스트레스를 최소화하기 위하여 방음 케이지에 넣어 40분 이상 적응시킨 후 Avisoft Recorder 프로그램(Avisoft Bioacoustics, Berlin, Germany)을 사용하여 base line을 20분간 측정하여 안정화를 확인하였다. 본 연구는 대구한의대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 실시하였다(승인번호 : DHU 2015-065).

2) 약재

원엽 모고채(Sejamae's farm, Gyeonggi, Korea)를 구입하여 물로 세척한 후 2일 동안 음건하여 사용하였다.

3) 시약

생리식염수(JW Pharmaceutical Corporation, Seoul, Korea), formaldehyde(Junsei chemical Corporation Ltd., Chuoku, Japan), AST와 ALT용 기질액(Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea), transaminase 측정용 시약(Asan Pharmaceutical, Seoul, Korea), USV program(Avisoft bioacoustics, Berlin, Germany)을 사용하였다.

4) 기구

부크너 깔때기 Single Piece, 1,000 mL(Jeiotech, Daejeon, Korea), 와트만 여과지(No.2)(GE Healthcare Inc., Wisconsin, USA), 감압농축기 COSMOS660 (Kyunsseo E&P, Incheon, Korea), 원심분리기 Hanil Continent-R(Hanil Science Industrial, Incheon, Korea), 동결건조기 Pilot(Ilshin Bio Base, Gyeonggi, Korea), 약침주입기 Insulin Syringe(sterile interior) 0.3 mL(BD Medical, France), Substance P EIA Kit (Caymanchem, Michigan, USA), 분광광도계 Sunrise TECAN(TECAN, Salzburg, Austria)을 사용하였다.

2. 방법

1) 약침의 제조

음건한 원엽 모고채를 부직포에 싸서 물 100 %를 용매로 추출하였고, 용매는 원료의 15배수를 투입하였다. 물을

100 °C로 상승시킨 후 3시간 동안 추출한 추출액은 부크너 깔때기에 와트만 여과지를 깔고 감압 여과 필터 후 감압 농축기에서 1차 농축을 실시하였다. 1차 농축액은 7,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 2차 필터한 후 동결건조하여 원료 150 g에서 동결건조물 분말 17.2 g을 얻었다. 추출된 시료는 생리식염수에 녹여 원엽 모고채 3 % 약침과 5 % 약침을 제조하였으며, NaOH를 사용하여 pH를 6.8~7.0으로 맞추었다.

2) 군 분류

Randomized block design을 이용하여 SD rat 24마리를 6마리씩 나누어 생리식염수를 주입한 정상군(NOR)과 생리식염수 주입 후 formalin을 주입한 대조군(CON), 원엽 모고채 3 % 약침주입 후 formalin을 주입한 원엽 모고채 3 % 약침군(DP3), 원엽 모고채 5 % 약침을 주입한 후 formalin을 주입한 원엽 모고채 5 % 약침군(DP5)으로 나누었다(Fig. 1).

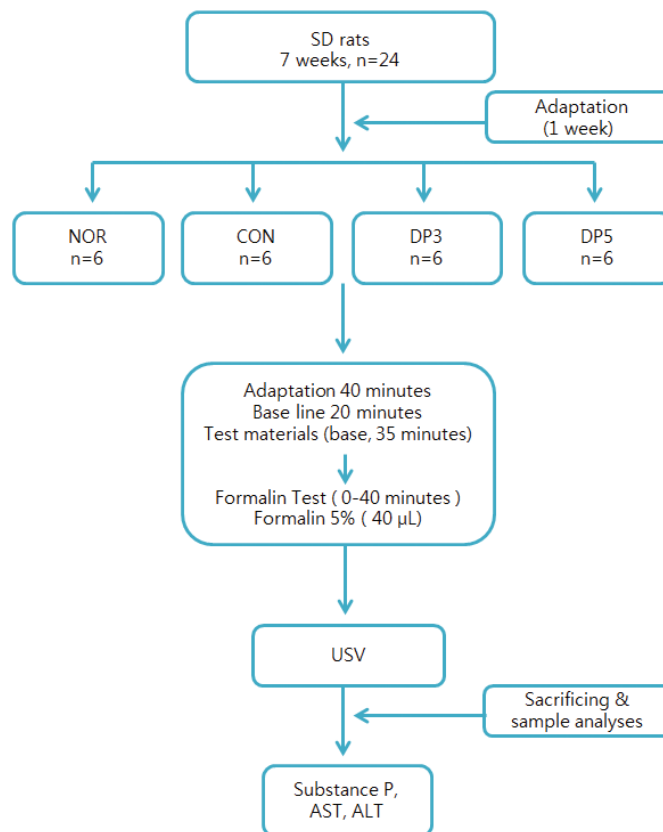


Fig. 1. Experimental design used in this study

SD : Sprague-Dawley.

NOR : Rat group injected normal saline and normal saline.

CON : Rat group injected normal saline and formalin 5 %.

DP3 : Rat group injected *Drosera rotundifolia L.* pharmacopuncture 3 % and formalin 5 %.

DP5 : Rat group injected *Drosera rotundifolia L.* pharmacopuncture 5 % and formalin 5 %.

USV : Ultrasonic vocalization.

AST : Aspartate aminotransferase.

ALT : Alanine aminotransferase.

3) 약침 처치

Insulin Syringe 0.3 mL를 이용하여 SD rat의 우측 太谿穴에 0.3~0.4 cm 깊이로 정상군, 대조군에는 생리식염수 40 μ L를, 원엽 모고채 3% 약침군과 원엽 모고채 5% 약침군에는 원엽 모고채 3% 약침과 5% 약침을 각각 40 μ L씩 주입하였다. 혈위는 骨度分寸法에 따라 인체에 상응하는 부위인 뒷발 경비골 내과의 후방 함요처를 취하였다¹⁴⁾.

4) Formalin test

생리식염수 혹은 원엽 모고채 약침주입 후 모든 군에서 35분간 약물을 흡수 및 진정시킨 후 우측 발뒤꿈치에 정상군에는 생리식염수 40 μ L를 주입하고, 대조군과 원엽 모고채 3% 약침군, 원엽 모고채 5% 약침군에는 formalin 5% 40 μ L를 주입하여 통증을 유발하였다. Formalin의 양과 농도 및 주입부위는 임 등¹⁵⁾의 논문을 따랐다.

5) 혈액 채취

Formalin 통증 유발 시험 종료 즉시 isoflurane으로 흡입 마취시켜 개복을 한 후 복부 하대정맥에서 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액은 Ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 처리 후 1,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C에서 15분간 원심분리를 한 후 혈장을 수집하였고 시료를 분석하기 전까지 -80 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

3. 평가방법

1) USV 측정

Formalin 주입 직후 40분 동안 5분 단위로 8차례 USV를 측정하였다. Early phase는 5분, late phase는 20~40분의 총 20분간 측정된 파장 중 rat이 통증을 느낄 때 나타나는 18~30 kHz 대에 해당하는 영역을 잘라 Pulse train analysis하여 횟수를 확인한 후 파장의 평균을 내어 분석하였다.

2) Substance P 활성화 측정

Substance P 항체가 부착된 96 well plate에 sample 및 substance P EIA antiserum을 분주하여 4 $^{\circ}$ C에서 overnight시킨 후, 5회 washing하여 Ellman's Reagent와 상온에서 90분간 반응시킨 후 405 nm에서 분광광도계로 흡광도를 측정하였다¹⁶⁾.

3) 간조직 독성 분석

간세포 손상과 밀접한 관련이 있는 AST와 ALT 활성도를 Reitman과 Frankel의 비색 분석법에 따른 효소법을

응용하여 분광광도계로 분석하였다¹⁹⁾. AST의 경우 L-aspartate와 α -Ketoglutarate를 첨가하면 혈장에 있는 효소에 의해 기질이 oxalacetic acid로 전환되며 ALT의 경우 D, L-alanine과 α -Ketoglutarate를 가하면 혈장에 있는 효소에 의해 기질이 pyruvate acid로 전환된다. oxalacetic acid와 pyruvate acid를 2, 4-dinitrophenyl hydrazine과 반응시키고 0.4 N NaOH를 가하면 비색으로 발색이 일어나 등갈색이 된다. 본 실험에서는 AST와 ALT용 기질액을 1 mL씩 취해 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 방치하였다. 그 후 혈장 200 μ L를 넣어 AST는 37 $^{\circ}$ C에서 60분간, ALT는 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응시킨 후 dinitrophenyl hydrazine 발색 용액을 1 mL씩 첨가하여 실온에서 20분간 반응시켰다. 0.4 N NaOH 용액 10 mL와 섞어 10분간 반응시킨 후 분광광도계로 490~530 nm에서 흡광도의 감소를 측정하고 표준곡선과 비교하여 활성도를 구하였다. 표준곡선은 혈청 transaminase 측정용 시약 중 검량선용 시약을 사용하였다.

4) 통계 분석

본 연구의 모든 실험 결과는 SPSS package program (Statistical package for the social sciences version 22. SPSS Inc., Chicago, USA)을 사용하였다. 여러 군간의 평균 차이에 대한 유의성 검정은 one-way analysis of variance(AVONA)를 실시하였고 그 후 대조군, 원엽 모고채 3% 약침군, 원엽 모고채 5% 약침군 간의 차이는 Duncan's multiple range test에 의해 $p < 0.05$ 의 수준에서 사후검정을 실시하였으며, 정상군과 대조군 간의 유의성 검정을 위해 Student's t-test를 실시하였다. 모든 결과는 mean \pm Standard Error(S.E.)로 표시하였다.

III. 결과

1. USV 분석

정상군과 대조군의 early phase 비교 시 정상군은 490.25 \pm 61.18회, 대조군은 809.25 \pm 35.231회로 정상군에서 유의성 있게($p < 0.01$) 낮았다. Late phase 비교 시 정상군은 27.70 \pm 8.69회, 대조군은 202.54 \pm 31.94회로 정상군에서 유의성 있게($p < 0.05$) 낮았으며 이는 formalin 주입으로 인한 통증이 정상적으로 유발되었음을 알 수 있다(Fig. 2).

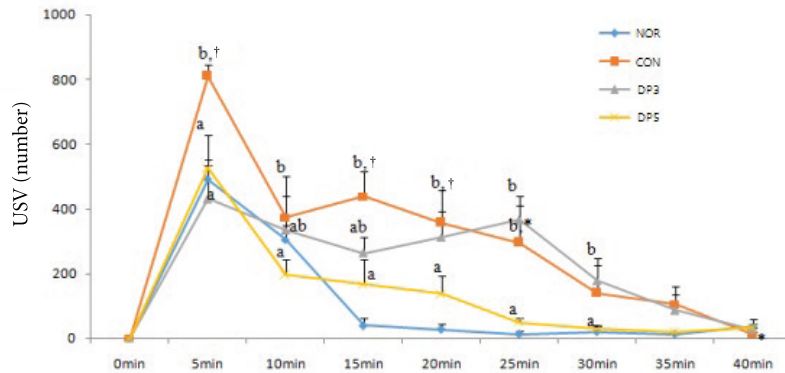


Fig. 2. Ultrasonic vocalization observed in experimental groups

Values are expressed as mean±S.E.

*: $p < 0.05$ compared with NOR

†: $p < 0.01$ compared with NOR

a, b : Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

NOR : Rat group injected normal saline and normal saline.

CON : Rat group injected normal saline and formalin 5 %.

DP3 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L, pharmacopuncture 3 % and formalin 5 %.

DP5 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L, pharmacopuncture 5 % and formalin 5 %.

대조군, 원엽 모고채 3 % 약침군, 원엽 모고채 5 % 약침군의 early phase 비교 시 원엽 모고채 3 % 약침군은 430.25 ± 104.71 회, 원엽 모고채 5 % 약침군은 525.75 ± 102.31 회로 원엽 모고채 3 % 약침군과 원엽 모고채 5 % 약침군에서 모두 대조군보다 유의성 있게 ($p < 0.05$) 낮았다.

Late phase의 경우, 원엽 모고채 3 % 약침군은 187.85 ± 17.64 회, 원엽 모고채 5 % 약침군은 90.84 ± 34.61 회로 원엽 모고채 5 % 약침군이 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.05$) 낮았다(Fig. 3).

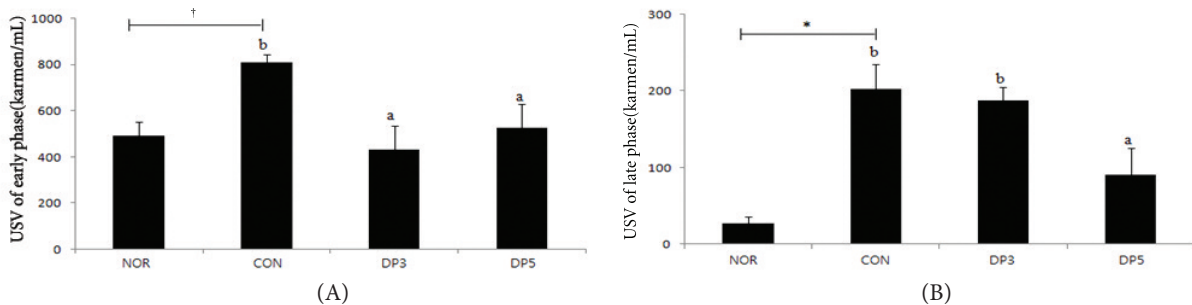


Fig. 3. Ultrasonic vocalization observed in experimental groups at early phase and late phase
(A) Early phase (B) Late phase

Values are expressed as mean±S.E.

*: $p < 0.05$ compared with NOR

†: $p < 0.01$ compared with NOR

a, b : Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

NOR : Rat group injected normal saline and normal saline.

CON : Rat group injected normal saline and formalin 5 %.

DP3 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L, pharmacopuncture 3 % and formalin 5 %.

DP5 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L, pharmacopuncture 5 % and formalin 5 %.

2. Substance P 활성화 분석

정상군과 대조군의 비교 시 정상군은 10.98 ± 1.57 pg/mL, 대조군은 13.31 ± 1.81 pg/mL로 대조군에서 유의성 있게 ($p < 0.05$) 높았다. 원엽 모고채 3% 약침군은 12.26 ± 1.13 pg/mL, 원엽 모고채 5% 약침군은 11.16 ± 1.75 pg/mL로 원엽 모고채 5% 약침군이 대조군에 비해 유의성 있게 ($p < 0.05$) 낮았다(Fig. 4).

3. 간조직 독성 분석

AST는 정상군 37.21 ± 3.18 karmen/mL, 대조군 36.20 ± 9.58 karmen/mL, 원엽 모고채 3% 약침군 38.38 ± 5.35 karmen/mL, 원엽 모고채 5% 약침군 38.18 ± 7.78 karmen/mL로 유의성 있는 차이가 없었다. ALT는 정상군 18.82 ± 0.40 karmen/mL, 대조군 17.35 ± 1.08 karmen/mL, 원엽 모고채 3% 약침군 18.48 ± 2.69 karmen/mL, 원엽 모고채 5% 약침군 19.70 ± 1.17 karmen/mL로 유의성 있는 차이가 없었다(Fig. 5).

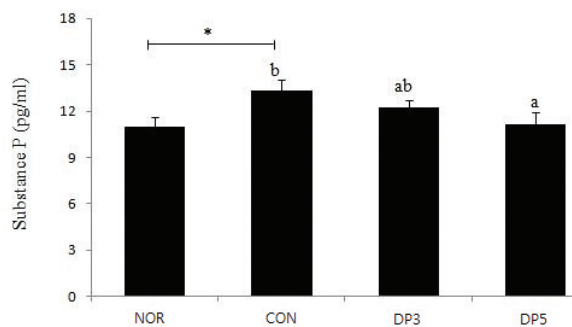


Fig. 4. Substance P observed in experimental groups

Values are expressed as mean \pm S.E.

*: $p < 0.05$ compared with NOR.

a, b : Values with different superscript are significantly different ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

NOR : Rat group injected normal saline and normal saline.

CON : Rat group injected normal saline and formalin 5%.

DP3 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 3% and formalin 5%.

DP5 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 5% and formalin 5%.

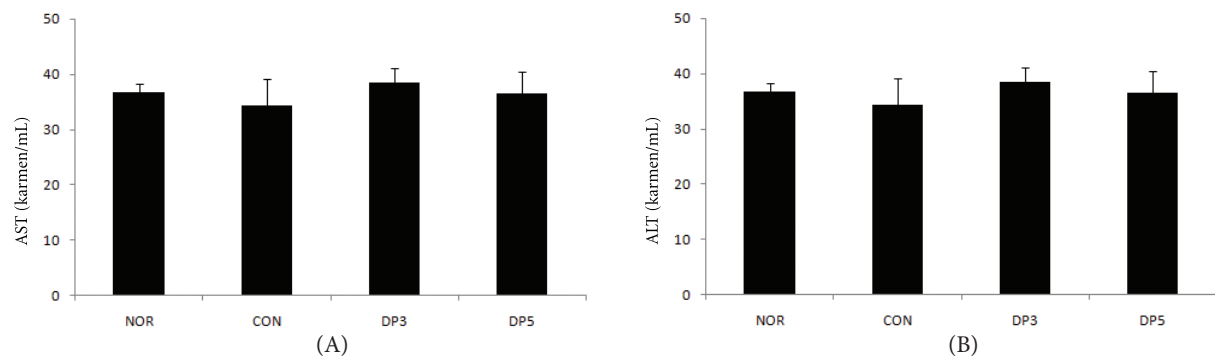


Fig. 5. Aspartate aminotransferase and Alanine aminotransferase observed in experimental groups
(A) Aspartate aminotransferase(AST) (B) Alanine aminotransferase(ALT)

Values are expressed as mean \pm S.E.

AST : Aspartate aminotransferase.

NOR : Rat group injected normal saline and normal saline.

CON : Rat group injected normal saline and formalin 5%.

DP3 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 3% and formalin 5%.

DP5 : Rat group injected *Drosera rotundifolia* L. pharmacopuncture 5% and formalin 5%.

IV. 고찰

통증의 정의는 다양하며, 신체 일부에 국한된 기분 나쁜 감각 혹은 잠재적이거나 실제적인 조직의 손상이 있는 경우 동반되는 불쾌한 감각과 정서적 경험을 의미한다^{18,19}. 다양한 물리적 자극 및 화학적 자극에 의해 조직이 손상되면 손상된 조직세포와 활성화된 말초신경의 1차성 구심 통각 수용체에서 bradykinin, serotonin, 칼륨이온, 수소이온, Substance P 등이 유리되어 염증기전, 조직 방어가 이루어지며, 손상 부위 주위의 역치가 낮아져 통각과민을 보이기도 한다^{18,20}.

이러한 통증을 줄이기 위해 phospholipase가 arachidonic acid로 만들어지는 과정을 억제하는 steroid, cyclooxygenase(COX)를 억제하여 prostaglandin을 합성을 억제하는 NSAIDs(nonsteroidal anti-inflammatory drugs), 그 외 cyclooxygenase-2(COX-2) 억제제, 마약류, 항우울제, 항간질제, 국소마취제 등의 약물이 사용된다. 하지만 간독성, 신장 문제, 소화기 문제 등 다양한 부작용이 문제점으로 지적되었다^{18,20}.

한의학에서는 통증 조절을 위해 수천 년 동안 침구요법, 약물요법 등을 사용하였으며 최근에는 추나요법, 매선요법, 약침요법 등 기존의 방법을 응용한 새로운 치료방법들을 사용하고 있다. 그 중 약침요법은 알코올 추출법, 증류추출법, 압착법, 희석법 등 다양한 방법으로 제조된 약침액을 질환과 유관한 經穴 혹은 阿是穴이라 불리는 양성반응점에 주입하는 치료법이다^{3,4}. 경락이론에 입각한 침구요법과 기미론에 입각한 약물요법이 혼합된 치료법으로 한 번의 시술로 환자의 만족도를 높일 수 있고, 소화관을 통과하지 않기 때문에 약효가 신속히 나타나며, 경구투여가 불가능한 환자에게도 사용할 수 있다는 장점을 가지고 있다. 현재 사용되고 있는 봉약침, 자하거약침, 녹용약침 등 외에도 기존의 거의 모든 약재를 약침으로 조제할 수 있으며, 약침제제의 다양성을 위해 약침의 효능, 효과, 기전, 안전성 등에 관한 연구가 진행 중이다⁵.

통증을 유발하는 방법 중 하나인 formalin test는 early phase와 late phase의 반응을 살펴볼 수 있는데 두 반응은 서로 다른 속성을 가진다. Early phase의 반응은 주로 formalin의 직접적인 말초자극으로 인한 C-fiber의 활성화로 인해 Substance P 등이 방출됨으로써 일어나며, late phase의 반응은 이로 인한 염증반응과 중추신경의 변화와 연관되어 있다. 따라서 이 방법은 진통효과를 측정하는 것 뿐만 아니라 통증의 기전을 밝히는 데에도 유용하며 진통제의 작용 위치가 중추신경계인지 말초신경계인지도

알 수 있다^{15,21}. Formalin 통증 모델을 이용한 약침 연구를 살펴보면 정²²은 rat에 나노봉침을 주입한 후 일정 시간이 지난 뒤 formalin으로 통증을 유발하여 나노봉침의 통증 발현 억제효과와 interleukin 1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α)의 발현을 측정을 통한 항염증효과를 평가하였다. 최 등²³은 흰쥐의 足三里穴(ST36)에 위령선 약침을 주입한 후 formalin으로 통증을 유발한 결과 late phase에서 약침 미처치군 및 임의의 혈에 위령선 약침을 주입한 군보다 유의성 있는 효과를 얻었다. 또한 Carageenan으로 발목에 관절염을 유발한 진통실험에서 6~8시간 이후부터 실험군의 체중분배비율이 유의성 있게 증가하였고, 부종 억제 실험에서는 4시간째부터 발목 둘레의 증가량이 유의성 있게 감소하였다고 보고하였다.

원엽 모고채는 여러해살이풀인 모고채과 식물인 원엽 모고채의 전초로 전국의 개울가나 습한 풀밭에서 자라며 서울 근교에서는 도봉산, 불암산 등에 자생하고 중국의 黑龍江, 吉林, 湖南, 浙江, 福建, 廣東 등을 비롯해 아시아, 유럽, 아메리카 북부 등 북반구에 분포한다. 국내에서는 약재로 잘 사용하지 않고 있으나 清熱利濕, 涼血解毒, 化痰消積의 효능이 있어 주로 腸炎, 痢疾, 咽喉腫痛, 肺熱咳嗽, 咯血, 衄血, 小兒疳積 등에 사용할 수 있다¹¹. 그 동안 이루어진 원엽 모고채에 대한 연구를 살펴보면 Melzig 등¹²은 guinea-pig ileum model에서 원엽 모고채 추출물의 항염증 및 항경련 효과를 확인하였고 Fukushima 등¹³은 in vitro 실험에서 원엽 모고채 추출물이 human mast cells(HMC-1)의 활성도를 낮춘다는 것을 확인하여 항염증 효과에 대한 연구를 하였다. 그러나 국내에서는 원엽 모고채에 대한 실험 및 임상연구가 거의 없다.

太谿穴은 족내과의 가장 높은 곳과 아킬레스건을 연결한 선의 중간에 있는 함요부로 하퇴의 후면과 발바닥의 피부를 지배하는 경골신경이 지나가는 곳이며 足少陰腎經의 原穴이며, 俞穴이다. 原穴은 장부의 원기가 경맥에 머물러 있는 곳으로 腎虛頭痛, 腎虛腰痛, 陰痿症, 夜尿症 등에 사용하며 俞穴은 體重節痛에 사용한다²⁴. 예비실험에서 足三里穴 등과 비교하여 실험을 한 결과 太谿穴에서 보다 높은 진통효과가 관찰되어 본 연구에서 太谿穴을 사용하였다.

USV는 실험동물에 통증을 가하거나 약물을 투여한 후 동물의 반응을 보는 방법 중 하나이다. 실험동물이 내는 소리를 녹음하여 그 데이터 중 해당 주파수에 상응하는 주파수의 횟수를 세어 결과를 분석한다. 척추동물은 종 특이적으로 갖는 목소리가 있으며 처한 상황이나 기분, 행동 등에 따라 서로 다른 소리를 내어 음파가 다르게 나타난다²⁵. 이러한 정보들은 정상 반응과 병적 반응을 이해하는데 도움

을 주어 Williams 등²⁶⁾, Han 등²⁷⁾은 mouse 혹은 rat의 통증 실험에서 USV를 사용하여 진통효과를 확인한 바가 있으며, 동물의 관리나 복지 수준을 평가하는 중요한 기준이 될 수 있다²⁸⁾. 특히 20~30 kHz의 발생음은 고통과 관련된 발생음으로 판단되어 고통의 정도나 복지의 척도로써 활용하고자 하는 관심의 대상이 되고 있다²⁹⁾.

본 연구는 원엽 모고채 약침의 진통효과를 확인하고자 太谿穴에 원엽 모고채 약침을 주입한 후 formalin으로 통증이 유도된 모델을 통해 USV, Substance P 활성화도, AST, ALT를 측정하였다. 생리식염수 주입 후 formalin을 주입한 대조군에서 정상군에 비해 USV가 증가하였으며 이는 통증이 정상적으로 유발되었음을 의미한다. USV 수치는 early phase에서 원엽 모고채 3% 약침군, 원엽 모고채 5% 약침군 모두에서 대조군보다 유의성 있게 낮았으며 late phase의 경우 원엽 모고채 5% 약침군이 대조군에 비하여 유의성 있게 낮았다. 원엽 모고채 3% 약침과 5% 약침 모두 초기 통증을 제어하는 경우 사용할 수 있으며, 5% 약침은 3% 약침보다 광범위한 통증에 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

Substance P는 11개의 아미노산으로 구성된 통각의 전달에 관련된 신경전달물질로 이 물질이 분비되면 통각신호가 뇌로 전달되어 통증을 느끼게 된다. 이는 제1차 구심성 신경섬유의 말초단과 중추단에서 모두 분비된다. 말초단에서 분비되는 Substance P는 혈관이완이 주된 작용이며 bradykinin을 추가적으로 축적시켜 신경성 부종을 일으킨다. 또한 비만세포로부터 histamin을 방출시키고 혈소판으로부터 serotonin을 방출시킨다. 중추단에서 분비되는 Substance P는 척수후각신경세포로 통각을 전달하는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 본 실험에서 생리식염수를 주입한 후 formalin을 주입한 대조군에서 정상군에 비하여 Substance P 수치가 높았으며 이는 통증이 정상적으로 유발되었음을 의미한다. 또한 원엽 모고채 5% 약침군에서 Substance P 수치가 유의성 있게 낮은 것은 초기 통각신호 전달을 억제하여 통증의 강도를 완화시켰음을 의미한다.

독성평가는 의약품의 안전성을 과학적으로 입증하는 가장 중요한 기초 자료이며 필수 자료이다. 인체 내 약물 대사는 대부분 간에서 일어나기 때문에 간독성 여부가 중요하다. 약물에 의한 간 손상의 기전은 내인성 기전과 특이성 기전으로 나눌 수 있다. 내인성 기전은 독성 대사 산물의 흡수 증가, 제거 감소 등으로 인한 내인성 독성이 원인이며, 특이성 기전은 약물과 단백질의 부가 화합물로 인한 알레르기, 과민반응에 의해 나타난다³⁰⁾. 또한 인체 내 대사산물 외에 간의 혈류량이 감소하여 간 손상이 유발된다는 견해도 있다^{31,32)}. 간독성 지표인 AST와 ALT는 간세포에 존재

하는 효소로서 간실질의 손상 혹은 질병에 의해 혈중 농도가 증가하며 간질환에 대한 민감도와 특이도가 높다. 간염이나 염증에 의한 간염에서는 ALT가 AST보다 더 증가하여 ALT/AST비가 1을 초과하며 세포괴사가 진행되면 미토콘드리아에 존재하는 AST까지 유리되어 ALT/AST가 감소한다³³⁾. 본 실험에서 혈장 AST와 ALT 활성화도는 모든 군에서 유의성 있는 차이를 나타내지 않았으며 이는 원엽 모고채 약침이 간 독성을 일으키지 않는 것으로 해석할 수 있다.

이상의 결과로 보아 원엽 모고채 약침은 formalin으로 유도된 통증을 개선시킬 수 있으며 그 작용은 신경전달물질인 Substance P와 관련이 있는 것으로 나타났다. 또한 AST, ALT 분석을 통해 간 독성을 일으키지 않음을 확인하였다. 향후 Substance P 외에 다른 평가 지표 분석 및 진통제와의 효과 비교연구 등이 필요할 것으로 사료된다.

V. 결론

Formalin으로 유도된 통증 모델에서 太谿穴에 주입한 원엽 모고채 약침의 진통효과를 확인하기 위하여 USV, Substance P 활성화도, 혈장 AST, ALT 측정을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. USV 분석 결과 early phase에서 원엽 모고채 3% 약침군, 원엽 모고채 5% 약침군에서 대조군보다 유의성 있게 낮았으며, late phase의 경우 원엽 모고채 5% 약침군이 대조군에 비하여 유의성 있게 낮았다.
2. Substance P 활성화도 분석 결과 원엽 모고채 5% 약침군은 대조군에 비해 유의성 있게 낮았다.
3. 혈장 AST와 ALT 분석 결과 정상군, 대조군, 원엽 모고채 3% 약침군, 원엽 모고채 5% 약침군의 비교에서 유의성 있는 차이가 없었다.

따라서 formalin으로 유도된 통증 모델에서 太谿穴에 주입한 원엽 모고채 약침은 통증을 감소시킬 수 있으며 이는 Substance P와 관련이 있는 것으로 나타났다. 또한 원엽 모고채 약침은 간 독성을 유발하지 않는 것으로 확인되었다.

VI. References

1. Statics Korea. Allowance Status of Disease's Sub Category about Frequence(2014) [Internet]. Daejeon : Statistics Korea, [cited 2015 October 28]. available from : http://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?orgId=350&tblId=DT_35001_A81211&conn_path=I2
2. Park JE, Jung HJ, Kim AR, Jung SY, Hwang HS, Choi SM. Current State of Pain Treatment in Oriental Medicine. *Journal of Korean Medicine*. 2011 ; 32(2) : 23-41.
3. Korean Pharmacopuncture Institute. Guidelines for Korean Institute of Herbal Acupuncture. Seoul : Hansung. 1999 : 13.
4. Korean Acupuncture & Moxibustion Society Textbook Compilation Committee. The Acupuncture and Moxibustion Medicine. Gyeonggi : Jipmoondang. 2012 : 230-1.
5. Korean Pharmacopuncture Institute. Pharmacopuncturology. 2nd ed. Seoul : Elsevier Korea. 2011 : 6-8.
6. Yang KR, Song HS. A Comparative study of Warm needling and Bee Venom Pharmacopuncture on Osteoarthritis of the Knee - A Randomized Controlled Trial. *Journal of Pharmacopuncture*. 2008 ; 11(2) : 21-31.
7. Lee GJ, Song YK, Lim HH. Effect of Bee Venom Pharmacopuncture and *Scolopendra Subspinipes* Pharmacopuncture on Functional Recovery and Anti-inflammation after Sciatic Crushed Nerve Injury in Rats. *J Oriental Rehab Med*. 2013 ; 23(2) : 17-31.
8. Ku JY. Comparison of the Effects between Sweet Bee Venom and Scolopendrid Pharmacopuncture on Carpal Tunnel Syndrome (Randomized, Controlled Clinical Trial) [dissertation]. Busan : Donggeui Univ. 2011. Korean.
9. Park MH, Lim ST, Choi SW. The Clinical Study on a Case of Transverse Myelitis with Bee Venom and *Hominis Placenta* Herbal Acupuncture. *Journal of Pharmacopuncture*. 2005 ; 8(2) : 17-22.
10. Moon GS. Ingredient and Use of Medicinal Herb. Seoul : Ilweolseogak. 1996 : 321-2.
11. The Compilation Committee. Chinese Medicinal Herb Pictorial Book. Seoul : Yeogang. 1994 : 1154.
12. Melzig MF, Pertz HH, Krenn L. Anti-inflammatory and Spasmolytic Activity of Extracts from *Droserae Herba*. *Phytomedicine*. 2001 ; 8(3) : 225-9.
13. Fukushima K, Nagai K, Hoshi Y et al. *Drosera rotundifolia* and *Drosera tokaiensis* Suppress the Activation of HMC-1 Human Mast Cells. *J Ethnopharmacol*. 2009 ; 125(1) : 90-6.
14. Ko HK. Transpositional Acupoints of the Rat. *The Acupuncture*. 1999 ; 16(3) : 115-22.
15. Yim YK, Ahn BC, Park DS et al. Review of the Formalin Test to Study Analgesic Effect and the Mechanism of the Analgesic Effect. *The Acupuncture*. 1999 ; 16(4) : 1-15.
16. Ellman GL. Tissue Sulfhydryl Groups. *Arch. Biochem. Biophys*. 1959 ; 82(1) : 70-7.
17. Reitman S, Frankel S. A Colorimetric Method for the Determination of Serum Glutamic oxalacetic and Glutamic pyruvic transaminase. *Am J Clin Pathol*. 1957 ; 28(1) : 56-63.
18. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th ed. Seoul : Jungdam. 2010 : 95-1016.
19. Merskey H, Albe-Fessard DG, Bonica JJ et al. Pain Terms : A List with Definitions and Notes on Usage. *Pain*. 1979 ; 6(3) : 249-52.
20. Kim SO. Studies on the Mechanism of Pain. *BioWave*. 2006 ; 8(3) : 1-6.
21. Tjolsen A, Berge OG, Hunskaar S, Rosland JH, Hole K. The Formalin Test : an Evaluation of the Method. *Pain*. 1992 ; 51(1) : 5-17.
22. Jeong IJ. Analgesic Effect of Poly(D,L-lactico-glycolic acid)-encapsulated Bee Venom Acupuncture at ST36 acupoint on Formalin-induced Pain in Rats [dissertation]. Seoul : Kyung Hee Univ. 2008. Korean.
23. Choi WJ, Kim KB, Kim KH, Kim JH. Analgesic Effect of *Clematidis Radix*(CR) Herbal-

- acupuncture on the Test Rats with Induced Acute Pain. *The Acupuncture*. 2009 ; 26(6) : 91-100.
24. Dictionary of New Oriental Medicine Committee. *Dictionary of New Oriental Medicine*. Seoul : Yeogang. 2005 : 624, 843, 1167-8.
 25. Portfors CV. Types and Functions of Ultrasonic Vocalizations in Laboratory Rats and Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2007 ; 46(1) : 28-34.
 26. Williams WO, Kriskin D, Mott KM. Ultrasonic Sound as an Indicator of Acute Pain in Laboratory Mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci*. 2008 ; 47(1) : 8-10.
 27. Han JS, Bird GC, Li W, Jones J, Neugebauer V. Computerized Analysis of Audible and Ultrasonic Vocalizations of Rats as a Standardized Measure of Pain-related Behavior. *J Neurosci Methods*. 2005 ; 141(2) : 261-9.
 28. Buck CL. *Neurobehavioral Correlates of Ultrasonic Vocalization in the Rat [dissertation]*. San Diego : Univ of California, 2014. English.
 29. Jeon JH. Ultrasound Vocalizations in Laboratory Rats. *Bulletin of the animal biotechnology*. 2008 ; 1 : 47-50.
 30. Martin JL, Njoku DB. Metabolism and Toxicity of Modern Inhaled Anesthetics. In : *Miller's Anesthesia*. 6th edition. Philadelphia : Elsevier Churchill Livingstone. 2005 : 231-72.
 31. Njoku D, Laster MJ, Gong DH, Eger EI 2nd, Reed GF, Martin JL. Biotransformation of Halothane, Enflurane, Isoflurane, and Desflurane to Trifluoroacetylated Liver Proteins : Association Between Protein Acylation and Hepatic Injury. *Anesth Analg*. 1997 ; 84(1) : 173-8.
 32. Park JT, Lee YB, Kim JS, Ryu H, Lim HK. Acute Liver Injury after Sevoflurane Anesthesia -A Case Report. *Korean J Anesthesiol*. 2009 ; 57(2) : 221-4.
 33. Choi KH. *Dictionary of Checkup Medicine*. 2nd ed. Seoul : Daehan Medical Literature. 2011 : 14, 127.