

골담초 메탄올 추출물의 진통 효과

박진석 · 차동석 · 전 훈*

우석대학교 약학대학

Anti-nociceptive Activity of Methanolic Extract of *Caragana sinica*

Jin Suck Park, Dong Seok Cha, and Hoon Jeon*

College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonbuk 55338, Korea

Abstract – *Caragana sinica* (Leguminosae) is a plant, which has been used as a traditional medicine for the treatment of lots of diseases including neuralgia, goat, hypertension and eczema. However, scientific studies of *C. sinica* in pharmacological aspects are not carried out. In this study, the anti-nociceptive effect of methanolic extract of *C. sinica* (MCS) was evaluated using various pain models. Our data represented that MCS significantly delayed the latency time under central pain condition which are arose from thermal stimuli, indicating MCS possess analgesic potential against central nociception. In addition, MCS showed strong and dose-dependent anti-nociceptive activities on acetic acid-induced peripheral pain, compared to positive control such as indomethacin. Further combination studies using naloxone, a non-selective opioid receptor antagonist, have revealed that analgesic activity of MCS was not changed in the presence of naloxone, indicating MCS exerts anti-nociceptive activity independent of opioid receptor. These results suggest that MCS may be an effective medicine in managing pain.

Key words – *Caragana sinica*, Anti-nociceptive, Pain

골담초(*Caragana sinica*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 식물로 골담근, 금작근, 토황기 등의 이명을 가진 약재이다. 한방에서는 풍사(風邪)를 몰아내고 통증을 멎게 하는 약물로 사용되어 왔으며 최근 연구를 통해 lignins, flavonoids와 oligostilbenes 성분을 함유하고 있다고 밝혀졌다. 그 중 oligostilbene계 성분에 속하는 caragasinin A, caraphenol B, caragasinin B는 라디칼 소거능이 뛰어나며 지질과산화물 효과적으로 억제한다고 보고되었다.^{1,2)} 또한 kobophenol A는 c-Jun N-terminal kinase(JNK)의 억제와 mitogen-activated protein(MAP) kinase의 활성화 및 cell death에 관여하는 인자인 Bcl-2, Mcl-1의 발현 억제를 통해 심장 및 심혈관 보호작용이 있는 것으로 알려졌다.³⁾ 그러나 골담초에 대한 약리연구는 현재까지 거의 보고되고 있지 않다.

통증이란 실제적인 또는 잠재적인 조직 손상에 따라 수반되는 혹은 그러한 손상의 관점에서 표현되는 불쾌한 감각적, 정서적 경험을 의미한다.⁴⁾ 신체는 이러한 통증을 통하여 조직에 손상을 가하는 위협을 감지하며 그에 따라 수반되는 2차 손상을 방지하거나 그 정도를 최소화시킨다. 이에

통증반응은 꼭 필요한 인체의 방어기전이다.⁵⁾ 그러나 통증의 정도가 지나치거나 손상된 조직의 치료가 완료되었음에도 불구하고 지속되는 경우 혹은 원인불명의 만성 통증의 경우에는 육체적인 괴로움과 정신적인 두려움, 불안감, 우울감 등의 부정적인 정서를 유발하는데 이는 인간의 삶의 질을 심각하게 떨어뜨릴 수 있는 주요 원인으로 작용할 수 있다.^{6,7)} 따라서 진통제 등을 이용한 통증 조절은 다양한 질환의 치료에 있어서 매우 중요한 부분이다.

현재 진통제로서 널리 사용되고 있는 아스피린을 포함한 비스테로이드성 소염제(non-steroidal anti-inflammatory drug, NSAID)는 해열, 소염, 진통의 효능을 갖는데 진통효능에 있어서 그 효과는 미약하며, 상부 위장관의 점막 염증과 출혈 그에 따른 천공을 일으키는 부작용이 보고된 바 있다.⁸⁾ 한편, opioid계 진통제인 morphine은 진통 효능이 강력함에도 불구하고 변비, 오심, 구토, 호흡곤란 등의 부작용이 있으며, 이보다 더욱 심각한 중독성 및 의존성을 비롯한 여러 가지 중추신경계통의 이상 상태를 야기할 수 있기에 그 사용에 있어서 매우 제한적이다.^{9,10)} 이에 상대적으로 부작용이 적은 진통제의 개발이 필요한 실정이다. 최근 많은 과학자들이 천연물 유래 화합물이 가지는 가능성에 주목하고

*교신저자(E-mail): jeonh@woosuk.ac.kr
(Tel): +82-63-290-1577

그에 따라 활발한 연구가 진행 중에 있으며, 많은 천연물에서 뛰어난 진통 활성이 보고되고 있다.¹¹⁾

한방에서 골담초는 우슬과 더불어 관절의 통증 완화를 위한 처방에 사용되어 왔으며, 이에 대한 과학적인 근거는 아직까지 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 마우스를 이용한 다양한 진통실험을 통해서 골담초가 중추성 및 말초성 통증에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 중추성 통증에 대한 골담초의 진통 효능을 알아보기 위하여 tail-immersion test와 hot-plate test를, 말초성 통증에 대한 골담초의 진통 효능을 확인하기 위해서 acetic acid-induced writhing test를 수행하였다. 더불어, formalin test를 수행함으로써 골담초의 중추성 통증과 말초성 통증에 대한 진통효능을 다시 한 번 검증하였으며 동시에 opioid 수용체 비선택적 길항제인 naloxone을 전 처리하여 골담초의 진통 효능과 opioid 수용체와의 연관성을 알아보았다.

재료 및 방법

실험재료 - 실험에 사용된 골담초는 2014년 4월 강원 원주 소재의 강원약초에서 구입하였고 우석대학교 약학대학 김대근 교수의 감정을 거친 후 실험을 진행하였다. 황증표본(WH064)은 우석대학교 약학대학 한약학과에 보관하였다. 건조된 샘플 300 g은 6000 mL의 100% methanol을 사용해 50°C를 유지한 상태에서 초음파추출기를 이용하여 추출되었으며, 이 과정을 세 번 반복하였다. 메탄올 추출물은 회전식 농축기를 이용하여 12.86 g(수율: 4.28%)으로 농축되었으며 그 뒤 동결 건조하여 -20°C에서 보관하였다.

기기 및 시약 - Indomethacin, acetic acid 및 naloxone은 Sigma-Aldrich(CA, USA)에서 구입하였다. Formalin은 Samchun Chemical(Korea)에서 구입하였다. Hot-plate apparatus(JD-A-10A, Jungdo BNP, Korea)와 water bath(LWB-106D, LabTech, Korea)는 열성 자극에 의한 통증 억제 실험을 위해 사용되었다.

실험 동물 - ICR mice(5주령, 수컷)는 다물사이언스(Daejeon, Korea)에서 구입하였다. 모든 실험동물은 22±1°C의 온도와 12시간 주기의 광주기와 암주기를 유지하였으며 일정한 양의 사료와 식수를 주기적으로 공급하였다. 본 연구에서 수행된 진통 실험은 International Association for the study of pain 및 우석대학교에서 규정하는 동물실험 윤리규정을 준수하였다.¹²⁾ 실험동물은 10마리에서 12마리가 무작위로 선택되어 구획되었다. 각각의 실험에서 골담초는 증류수를 용매로 하여 구강을 통해 투여되었고 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 양성대조군으로 사용된 약물 중 tramadol(15 mg/kg)은 복강 주사하였고, indomethacin(5 mg/kg)은 경구를 통해 투여하였다.

Tail Immersion Test - Tail immersion test는 각 군으로

구획된 ICR mouse의 꼬리 절반을 50±0.2°C의 온도가 유지되는 water bath 안에 담근 후 꼬리를 다시 들어 올리는 시간을 측정하였다. 시간 측정은 골담초(250, 500 mg/kg)와 tramadol(15 mg/kg) 투여 후 0, 30, 60, 90, 120 분이 지난 뒤에 시행되었다. 또한 조직 손상을 피하기 위해 측정시간은 20초를 최대로 하였다.

Hot-plate Test - Hot-plate test는 Franzotti 등의 방법을 약간 수정하여 수행하였다.¹³⁾ ICR mouse를 각 군으로 구획한 후, 55±1°C를 유지시킨 상태의 hot-plate 위에 실험 동물을 올려놓은 뒤 통증 반응(앞발 물기, 뒤로 가기, 제자리 뛰기)을 보일 때까지의 시간을 측정하였다. 시간 측정은 골담초(250, 500 mg/kg)와 tramadol(15 mg/kg) 투여 후 0, 30, 60, 90, 120 분이 지난 뒤에 시행되었다. 또한 조직 손상을 피하기 위해 측정시간은 30초를 최대로 하였다.

Acetic Acid-induced Writhing Test - ICR mouse의 복강에 생리 식염수를 용매로 acetic acid(0.8%)를 주사한 후 나타나는 writhing motion의 횟수를 투여 후 5분 뒤부터 20분간 측정하였다. Acetic acid를 복강 주사 60분 전에 골담초(250, 500 mg/kg)는 증류수를 용매로 하여 구강을 통해 투여되었고 음성대조군에서는 같은 양의 증류수를 투여하였다. 또한 양성대조군으로 indomethacin(5 mg/kg)을 사용하였다.

Formalin Test - 생리 식염수를 용매로 한 formalin(1.5%, 20 µL)을 ICR mouse의 족부에 피하주사 하였을 때 실험동물은 주사부위를 핥는 행동을 보인다. 이러한 통증 반응을 formalin 주사 직후 5분간(early phase) 또한 주사 후 25-40분간(late phase) 각각 측정하였다. 골담초(250, 500 mg/kg)는 증류수를 용매로 하여 1.5% formalin 투여 60분 전에 구강을 통해 투여되었고 음성대조군은 같은 양의 증류수를 투여하였다. 양성대조군으로 사용된 약물 중 tramadol(15 mg/kg)은 formalin 투여 30분 전에 복강주사하였고, indomethacin(5 mg/kg)은 formalin 투여 60분 전 구강투여 하였다. 또한 opioid 수용체와의 연관성을 알아보기 위해 병용 투여한 naloxone(5 mg/kg)은 약물 처리 15분 전에 복강주사로 투여되었다.

통계 분석 - 모든 자료는 평균값±표준오차(mean±S.E.M.)로 표시하였고 두 군 간의 비교는 Student's *t*-test를 이용하여 *p*-values 값을 구하였다. *p*-values 값이 0.05 미만인 경우 신뢰할 수 있는 데이터로 간주하였다.

결과 및 고찰

통증은 그 경로와 방향에 따라 중추성 통증과 말초성 통증으로 구분할 수 있다. 중추성 통증은 중추신경계에 속하는 대뇌 피질과 척수의 이상감작에 의해 발생하는 기계적 열자극에 의한 통증으로서 중추신경계에는 opioid 수용체가

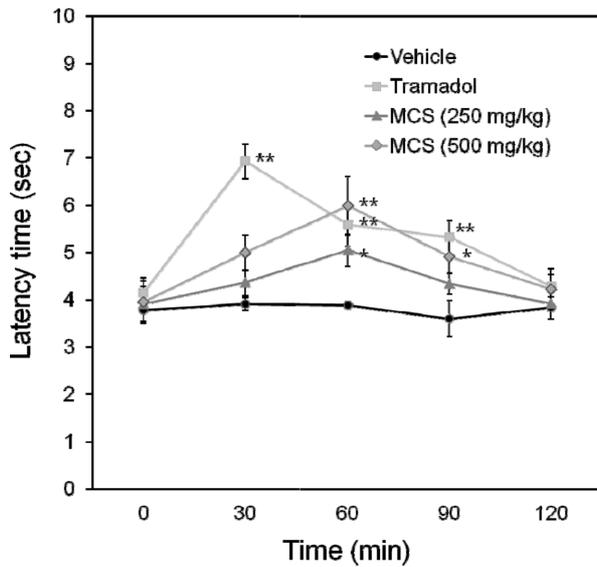


Fig. 1. Analgesic activity of MCS in the tail immersion test. The mice were treated with tramadol (15 mg/kg; i.p.), MCS (250, 500 mg/kg; p.o.). Values expressed as mean \pm S.E.M. and units are in seconds (n=10-12). Differences between groups were statistically analysed by Student-*t* test. **p*<0.05 and ***p*<0.01 compared to vehicle-treated group.

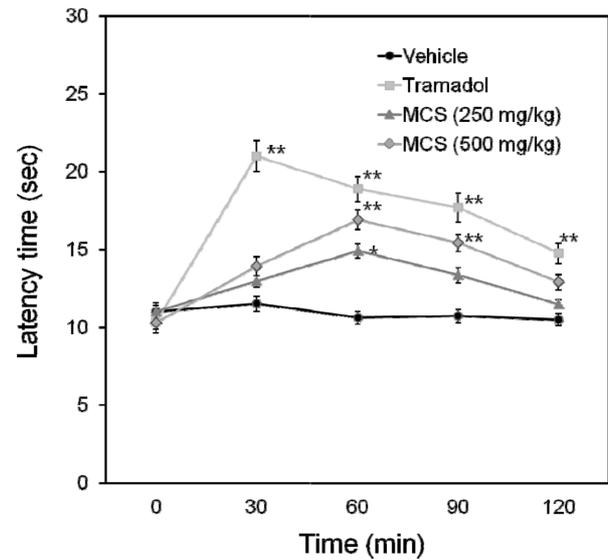


Fig. 2. Analgesic activity of MCS in the hot-plate test. The mice were treated with tramadol (15 mg/kg; i.p.), MCS (250, 500 mg/kg; p.o.), or distilled water. Values expressed as mean \pm S.E.M. (n=10-12). Differences between groups were statistically analysed by Student-*t* test. **p*<0.05 and ***p*<0.01 compared to vehicle-treated group.

분포하여 자극의 전달에 큰 영향을 미친다. 반면, 말초성 통증은 특정 신경 섬유에 인접해 있는 조직의 부분적 손상에 의한 염증성 매개물질의 분비가 원인이 되어 발생하며 염증성, 화학적 자극 등으로 인한 통증이다.¹⁴⁾

본 연구에서는 골담초가 중추성 통증 및 말초성 통증에 미치는 영향을 다양한 중추성 및 말초성 통증모델을 사용하여 검정하였다. 먼저 중추성 통증에 대한 골담초의 진통 효능을 알아보기 위해서 tail immersion test와 hot-plate test 같은 열자극으로 유도된 통증에 대한 반응시간을 관찰하였다. Tail immersion test 수행 결과, 골담초 투여군은 대조군에 비하여 열자극에 의한 반응이 나타나는 시간이 저농도군(250 mg/kg)은 43.74%, 고농도군(500 mg/kg)은 54.04% 증가하였다. 또한 양성대조군으로 사용된 opioid계 진통제인 tramadol 역시 유의적인 진통효능을 나타내었다(Fig. 1). 또 다른 중추성 통증모델인 hot-plate test 수행 결과, tail immersion test의 결과와 마찬가지로 골담초는 저농도군(250 mg/kg)과 고농도군(500 mg/kg)에서 농도 의존적인 통증 억제 효과(각각 40.17%, 77.71%)를 보였다(Fig. 2). 두 실험 모두에서 골담초는 투여 후 60분이 지났을 때 가장 좋은 진통효과가 나타났고 시간이 지남에 따라서 그 효과가 서서히 감소한 반면에, 양성대조군으로 사용된 tramadol은 투여 후 30분에 가장 강력한 진통효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 골담초(p.o.)와 tramadol(i.p.)의 투여 방법 차이에 따라 약물의 혈중 농도가 최대치에 도

달하는데 걸리는 시간이 다른데서 기인한 것으로 생각된다.

다음으로 말초성 통증에 있어서 골담초의 진통 효능을 알아보기 위하여 acetic acid-induced writhing test를 수행하였다. 이 실험법은 acetic acid를 쥐의 복강에 투여하였을 때 복막 내에 생성되는 prostaglandins(PGs), 특히 PGE₂와 밀접한 관련이 있으며 염증성 통증과 관련되어 있다고 알려져 있다.^{15,16)} 따라서 NSAID계 약물은 COX의 활성을 저해하여 PG의 합성을 억제하므로 말초성 통증에 효과적으로 사용될 수 있다. 실험 결과, 골담초 투여군은 대조군에 비해 writhing motion 횟수를 저농도군(250 mg/kg)은 23.07%, 고농도군(500 mg/kg)은 48.42% 감소시키는 것을 확인할 수 있었으며, 양성대조군으로 사용된 NSAID계 약물인 indomethacin 역시 writhing motion에 유의적인 영향(56.53%)을 주는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 이러한 결과는 골담초의 함유 성분인 stilbene oligomer 구조를 가진 (+)-alpha-viniferin의 항염증 효과에서 기인한 것으로 생각된다.¹⁷⁾

마지막으로 앞서 확인한 중추성 통증 및 말초성 통증에 대한 골담초의 진통활성을 다시 한 번 검정하기 위하여 formalin test를 수행하였다. 말초성 유해 자극원인 formalin을 피하주사하게 되면 두 가지 통증 매커니즘을 통해 통증 반응이 발생한다. 먼저 C 섬유를 통한 직접적인 자극으로 인한 early phase(0-5 min)의 반응은 신경성 통증 반응으로서 morphine과 같은 opioid계 약물 혹은 그 유사체에 의해 저해될 수 있다. 반면, late phase(20-35 min)는 염증성 통증

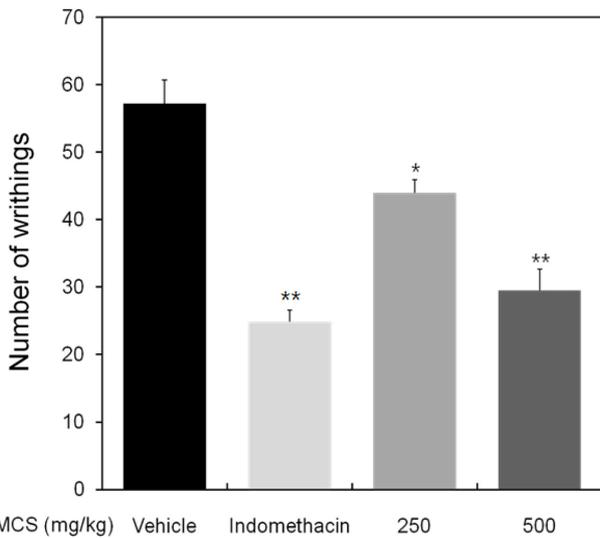


Fig. 3. Analgesic activity of MCS in the acetic acid-induced writhing test. The mice were treated with indomethacin (5 mg/kg; p.o.), MCS (250, 500 mg/kg; p.o.), or distilled water. Values expressed as mean±S.E.M. (n=10-12). Differences between groups were statistically analysed by Student-*t* test. **p*<0.05 and ***p*<0.01 compared to vehicle-treated group.

반응으로서 말초 조직 내에서 PGs, serotonin, histamine 등과 같은 염증 매개체의 영향을 받게 된다.^{18,19)} Formalin test의 결과, 양성대조군으로 사용된 중추성 진통제인 tramadol은 early phase와 late phase 모두 뛰어난 진통효과를 보였으나, NSAID계 약물인 indomethacin은 late phase에서만 진통 효과를 나타냈다. 이러한 결과는 이미 보고된 연구 결과와 일치하는 것으로 주로 중추신경계에 작용하는 약물은 formalin test의 두 phase 모두에서 작용하는 반면, 말초신경계에 작용하는 steroid계 약물이나 NSAID계 약물은 late

phase에서만 그 효과가 나타날 뿐 early phase에서는 그 효과가 거의 나타나지 않는다.²⁰⁾ 한편, 골담초는 first phase와 second phase에서 모두 농도 유의적으로 실험동물의 반응을 효과적으로 저해(저농도 18.21%, 고농도 34.23%)하였으며, 이는 골담초가 중추성 통증과 말초성 통증 모두를 억제 한다는 것을 의미한다. 이러한 결과를 통해 앞서 시행한 실험에서 나타난 중추성 및 말초성 통증에 대한 골담초의 진통 효능을 재확인 할 수 있었다(Table 1).

본 연구에서는 골담초의 통증 억제 효과가 opioid 수용체를 매개로 나타나는지 알아보기 위하여 opioid 수용체의 비선택적 길항제인 naloxone을 전 처리한 다음 formalin test를 수행하여 실험동물의 행동양상을 관찰하였다. Partial opioid receptor agonist로 알려진 tramadol의 경우 naloxone의 전 처리 후 그 정도는 감소하였으나 여전히 진통 효과가 유지됨을 확인할 수 있었다. 이는 tramadol이 부분적으로 opioid 수용체에 영향을 미치며 동시에 다른 기전으로도 진통 효능을 나타낸다는 점에서 기인한 결과이다.²¹⁾ 그러나 NSAID계 약물인 indomethacin은 naloxone의 전처리가 late phase의 진통 활성화에 영향을 미치지 않았다. 한편, 골담초 역시 naloxone에 의해 유의적인 진통 효능의 변화가 관찰되지 않았으며, 이러한 결과는 골담초의 진통 활성이 opioid 수용체에 비의존적임을 나타낸다. 따라서 골담초에는 opioid계 진통제에서 나타나는 부작용이나 중독성이 없을 것으로 추측된다.

이상의 결과로 골담초가 opioid 수용체에 비의존적으로 중추성 통증과 말초성 통증 모두를 억제하는데 우수한 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 더불어 앞으로의 연구를 통해 골담초의 정확한 진통 기전을 밝히는 노력이 필요할 것으로 사료된다.

Table 1. Analgesic activity of MCS in the formalin test

Treatment	Dose (mg/kg)	Naloxone (5 mg/kg)	Early Phase (0-5 min)		Late Phase (20-35 min)	
			Licking time (s)	Inhibition (%)	Licking time (s)	Inhibition (%)
Vehicle	-	-	135.4±11.9	-	156.72±15.99	-
Tramadol	15	-	53.6±6.22	60.41**	66.16±6.78**	57.79**
	15	+	92.27±6.15	31.85**##	107.18±8.64	31.61*##
Indomethacin	5	-	132.51±6.49	1.51	99.21±10.91	36.69**
	5	+	132.19±10.32	1.75	91.05±8.02**	41.90**
MCS	250	-	112.96±3.13	18.21*	125.76±10.91	19.75*
	500	-	91.96±1.89	34.23**	99.88±7.73**	35.19**
	500	+	94.14±4.17	31.62**	101.96±11.39**	34.94**

The mice were treated with tramadol (15 mg/kg; i.p.), indomethacin (5 mg/kg; p.o.), MCS (250, 500 mg/kg; p.o.), or distilled water. Values expressed as mean±S.E.M. (N=10-12). Naloxone (5 mg/kg; i.p.) treatment was performed 15 min prior to drug administration. Differences between groups were statistically analysed by Students *t*-test. **p*<0.05 and ***p*<0.01 compared to vehicle-treated group, while ##*p*<0.01 compared to naloxone-untreated group.

결 론

본 연구에서 확인한 골담초 메탄올 추출물의 진통 효능은 다음과 같다. 온도자극을 매개로 한 중추성 통증모델에서 골담초는 유의적인 중추성 통증 억제능을 나타내었다. 또한 acetic acid로 유도한 화학적 자극에 대해서도 골담초의 말초성 통증 억제 효과를 확인할 수 있었다. 마지막으로 formalin test를 통하여 골담초의 중추성 및 말초성 통증 억제능을 재확인 하였으며, naloxone을 이용한 연구를 통해서 골담초의 진통효과는 opioid 수용체와 관련이 없다는 것을 알 수 있었다.

인용문헌

- Jin, Q., Han, X. H., Hong, S. S., Lee, C., Choe, S., Lee, D., Kim, Y., Hong, J. T., Lee, M. K. and Hwang, B. Y. (2012) Antioxidative oligostilbenes from *Caragana sinica*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **22**: 973-976.
- Xiao, L. P., Shi, Z. J., Xu, F., Sun, R. C. and Mohanty, A. K. (2011) Structural characterization of lignins isolated from *Caragana sinica* using FT-IR and NMR spectroscopy. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi* **31**: 2369-2376.
- Lee, S. R., Kwak, J. H., Noh, S. J., Pronto, J. R., Ko, K. S., Rhee, B. D., Xu, Z., Kim, N. and Han, J. (2014) Kobophenol A inhibits sodium nitroprusside-induced cardiac H9c2 cell death through suppressing activation of JNK and preserving mitochondrial anti-apoptotic Bcl-2 and Mcl-1. *Chem. Pharm. Bull.* **62**: 713-718.
- Bonica, J. J. (1979) The need of a taxonomy. *Pain*. **6**: 247-248.
- Holden, A. V. and Winlow, W. (1984) The neurobiology of pain: symposium of the northern neurobiology group, Held at Leeds on 18 April, 1983. Manchester University Press.
- Osborn, R. L., Demoncada, A. C. and Feuerstein, M. (2006) Psychosocial interventions for depression, anxiety, and quality of life in cancer survivors: meta-analyses. *Int. J. Psychiatry Med.* **36**: 13-34.
- Poobalan, A., Bruce, J., King, P., Chambers, W., Krukowski, Z. and Smith, W. (2001) Chronic pain and quality of life following open inguinal hernia repair. *Br. J. Surg.* **88**: 1122-1126.
- Kim, H. J., Chung, W. C., Lee, K. M., Paik, C. N., Jung, S. H., Kim, J. D., Jung, S. H. and Kwak, J. W. (2009) Multiple gastrointestinal drug induced ulcers associated with aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs: A case report and review of the literature. *Korean J. Gastrointest. Endosc.* **39**: 379-383.
- Cepeda, M. S., Alvarez, H., Morales, O. and Carr, D. B. (2004) Addition of ultralow dose naloxone to postoperative morphine PCA: unchanged analgesia and opioid requirement but decreased incidence of opioid side effects. *Pain* **107**: 41-46.
- Poulsen, L., Brøsen, K., Arendt-Nielsen, L., Gram, L., Elbaek, K. and Sindrup, S. (1996) Codeine and morphine in extensive and poor metabolizers of sparteine: pharmacokinetics, analgesic effect and side effects. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **51**: 289-295.
- Calixto, J. B., Beirith, A., Ferreira, J., Santos, A. R., Filho, V. C. and Yunes, R. A. (2000) Naturally occurring antinociceptive substances from plants. *Phytother. Res.* **14**: 401-418.
- Zimmermann, M. (1983) Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain* **16**: 109-110.
- Franzotti, E., Santos, C., Rodrigues, H., Mourao, R., Andrade, M. and Antonioli, A. (2000) Anti-inflammatory, analgesic activity and acute toxicity of *Sida cordifolia* L.(Malva-branca). *J. Ethnopharmacol.* **72**: 273-277.
- Li, S. and Tator, C. H. (2000) Action of locally administered NMDA and AMPA/kainate receptor antagonists in spinal cord injury. *Neurol. Res.* **22**: 171-180.
- Deraedt, R., Jouquey, S., Delevallee, F. and Flahaut, M. (1980) Release of prostaglandins E and F in an algogenic reaction and its inhibition. *Eur. J. Pharmacol.* **61**: 17-24.
- Bley, K. R., Hunter, J. C., Eglen, R. M. and Smith, J. A. (1998) The role of IP prostanoid receptors in inflammatory pain. *Trends Pharmacol. Sci.* **19**: 141-147.
- Kitanaka, S., Ikezawa, T., Yasukawa, K., Yamanouchi, S., Takido, M., Sung, H. K. and Kim, I. H. (1990) (+)-Alpha-*viniferin*, an anti-inflammatory compound from *Caragana chamlagu* root. *Chem. Pharm. Bull.* **38**: 432-435.
- Hunskar, S., Fasmer, O. B. and Hole, K. (1985) Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. *J. Neurosci. Methods* **14**: 69-76.
- do Amaral, J. F., Silva, M. I. G., de Aquino Neto, Manuel Rufino Aquino, Neto, P. F. T., Moura, B. A., de Melo, Carla Thiciane Vasconcelos, de Araújo, Fernando Luiz Oliveira, de Sousa, D. P., de Vasconcelos, P. F., de Vasconcelos, S. M., and de Sousa F. C. (2007) Antinociceptive effect of the monoterpene R(-)-limonene in mice. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 1217-1220.
- Vongtau, H., Abbah, J., Ngazal, I., Kunle, O., Chindo, B., Otsapa, P. and Gamaniel, K. (2004) Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Pari-nari polyandra* stem bark in rats and mice. *J. Ethnopharmacol.* **90**: 115-121.
- Yalcin, I. and Aksu, F. (2005) Involvement of potassium channels and nitric oxide in tramadol antinociception. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **80**: 69-75.

(2016. 2. 12 접수; 2016. 3. 18 심사; 2016. 3. 28 게재확정)