

급성 안면부 통증모델에서 한약재료(용규, 포공영, 마치현, 토복령) 추출물의 통증조절효과

김희진, 김윤경, 최자형, 이민경 †
동의대학교 일반대학원 보건의과학과

Anti-nociceptive effects of herb extract (*Solanum nigrum* L., *Taraxacum platycarpum*, *Portulaca oleracea* L., *Smilax china*) on acute orofacial pain in rats

Hee-Jin Kim, Yun-Kyung Kim, Ja-Hyung Choi, Min-Kyung Lee †

Department of Biomedical Health Science, Dong-Eui University

ABSTRACT *Solanum nigrum* L., *Taraxacum platycarpum*, *Portulaca oleracea* L., and *Smilax china* are natural products which have an antibiotic effect. They are known for being anti-oxidant, anti-cancer, anti-nociceptive and detoxification in effect. In oriental medical science they are renowned for protecting kidney and urinary functions. However, the study of influence on relieving inflammatory orofacial pain is insufficient. So, this study deals with influence on orofacial pain control. Experimental 7 to 8-week-old male Sprague-Dawley rats weighing 240~280g were used. In order to induce acute orofacial pain, 50 μ l formalin (5%) was injected under the vibrissapad of the rats. The rats were divided into 6 groups (n=3); formalin, formalin after distilled water (vehicle) or 4 herb extracts (*T. platycarpum*, *S. nigrum* L., *P. oleracea* L and *S. china*). The number of reactive behavioral responses including rubbing or scratching of the facial region was recorded for 9 successive 5-min intervals following formalin injection. Inflammatory orofacial pain was substantially reduced in the 4 herb extracts compared to the control group (vehicle). The pain was reduced in order of (*T. platycarpum*, *S. nigrum* L., *P. oleracea* L and *S. china*). According to the results, the 4 herb extracts can be considered as potential medicine for lessening acute inflammatory pain in orofacial area.

Key words : Herb extracts, Orofacial pain, Formalin

† Correspondence to Lee M-K,
Tel: +82-51-890-4238
Fax: +82-0505-182-6878
E-mail: lmk849@deu.ac.kr

Received Feb 28, 2018

Revised Mar 5, 2018

Accepted Mar 16, 2018

I. 서론

통증제어는 통증을 완화시키는 것으로, 의료에 있어서 필수적이다. 통증제어 방법으로는 약물, 신경차단, 전기 자극 등 다양하다[1]. 통증을 치료하기 위해 염증반응의 주요 매개체를 억제하는 비스테로이드성 약물(non-steroidal anti-inflammatory drugs)이 주로 사용되고 있으나, 이들 약물은 위

장관 독성, 특히 장기간 복용 시 혈전증 등의 부작용을 일으킬 수 있어서 사용에 주의가 요구 되고 있다[2]. 이에 화학약품 대신 자연적이고 건강을 보하는 한방 제품과 의약품을 찾는 소비자들이 증가하고 있으며[3], 활발한 연구가 진행 중이다. 천연물 및 한약 재료로 연구한 논문들의 화합물의 범주는 flavonoid가 가장 많이 연구 되어져 있고, triterpenoid, saponin, coumarin 등의 화합물에 대한 연구들도 시행되어지

고 있다[4]. 이 중 식물 성분의 풍부한 종류 중 하나인 flavonoid 의 생리활성에 관한 연구는 1936년 Szent-Gyorgyi 에 의해 hesperidin, rutin, eriodictin 등의 모세혈관투과율을 저하시킨다고 보고한 것이 처음이며, 그는 이들에 대해 “vitamin P”라 명명하였다. 그 후 flavonoid의 생리 및 약리활성에 관한 많은 연구가 진행되어 대표적인 약리작용[5]으로 항암제, 항균제, 항바이러스제, 항염증제, 면역조절제 및 항혈전제 등과 같은 다양한 생물학적, 약리학적 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다[6]. Kim 등[7]의 연구에서는 생약재 고향강(*Alpinia officinarum* Hance)의 MeOH 추출물이 phenylephrine 전처리로 유발한 흰쥐 적출혈관의 수축을 농도 의존적으로 이완시킴을 확인하였으며, 고향강의 MeOH 추출물이 보여준 혈관평활근 이완 효과는 이들 flavonoid 화합물에 기인한 것으로 보고하였다[7]. 또한 Kim 등[8]의 연구에서는 streptozotocin (STZ)을 복강 투여하여 당뇨를 유발시킨 rat에 발효홍삼을 경구 투여하여 확인한 실험에서 STZ 투여에 의해 증가된 혈청 내 alanine aminotransferase와 aspartate aminotransferase의 활성이 발효홍삼 추출물의 투여로 감소하였으며, 발효홍삼 추출물의 투여로 항산화효소 활성이 유의적으로 증가하였음을 확인하였다[8]. 이처럼 천연으로부터 항산화물질을 찾고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 합성 항산화제는 탁월한 효과와 경제성으로 폭넓게 사용되고 있으나, 발암의 가능성과 인체에 대한 안전성에 문제가 제기되기 때문에 다양한 약용식물들이 각 중 의약품과 식품의 첨가제로 개발되고 있다[9]. 축노제통탕은 신장과 방광 기능을 보하는 육미지황탕에 20여 가지의 약재를 가미한 처방이며 열을 내리면서 독을 풀어내는 효능이 있는 금은화, 소변 기능을 개선하는 복분자와 오미자, 천연 항생제라 할 수 있는 용규(*Solanum nigrum* L.), 포공영(*Taraxacum platycarpum*), 마치현(*Portulaca oleracea* L.), 토복령(*Smilax china*) 등을 가미해 빈뇨를 개선하고 염증을 사라지게 하는 목적의 한약이다[10]. 그 중 생체 내에서 항염증 작용, 혈당 저하, 혈액응고저하 등의 효능이 있는 용규[11]와 한방에서 해열, 발한, 강장 해독, 임파선염, 급성기관지염, 위염, 담낭염, 부인병 등의 치료에 사용되고 있으며 항산화 및 항암효과가 우수한 것으로 보고되고 있는 포공영[12] 그리고 대장균, 장티푸스균, 이질간균, 포도상균 등에서 현저한 억제작용으로 새롭게 보고되어 급만성 장염의 높은 완치율로 천연항생제라고 평가되고 있는 마치현[13]이 천연항생제의 효능을 보이고 있으며, 토복령 또한 임상에서 이뇨, 해독, 소

염 효능을 이용하여 위암, 식도염, 만성 피부질환 등의 치료에 사용되고 있다. 토복령의 약리효과에 관한 연구를 통해서 항돌연변이 원성작용, 항암작용, phospholipase A2 (PLA2)저해작용 등이 확인되었고, 염증 매개 물질인 iNOS, COX-2의 발현을 억제하는 효과가 있는 것으로 밝혀졌다[14]. 축노제통탕에 포함 된 천연항생제라 할 수 있는 용규, 포공영, 마치현, 토복령에 대한 여러 가지 효능이 다양한 분야에서 입증되고 있다. 그러나 구강안면부위통증에 대한 연구는 미비한 실정이다. 본 연구에서는 이와같은 한약재로 추출물들이 구강안면부위에 급성통증을 유발한 흰 쥐에서 통증조절 효과가 있는지를 알아보고자 한다.

II. 연구 대상 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 7-8주령의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(240-280 g)를 효창 사이언스(Deagu, Korea)에서 공급받아 사용하였다. 23~25℃의 일정한 환경에서 12시간 주/야 순환주기 하였고 물과 사료는 자유로이 공급하였다. 행동적인 억압 등에 의한 실험 전 스트레스를 가능한 최소화 하였다. 본 연구는 의식이 있는 동물의 실험에 관한 통증연구학회의 윤리적 규정을 준수하고 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인(A2017-022)을 받아 연구를 시행하였다.

2. 시약준비

한약재료 용규, 포공영, 마치현, 토복령은 부산진 전통약재 시장(Busan, Korea)에서 구입하였다. 4가지의 건조된 한약 재료를 각 20 g씩 전기식 지시저울(DRETEC사, Japan)로 정확히 달고 각각 500 ml의 증류수와 혼합하여 1시간동안 열수 추출한 뒤 여과한 후 사용하였다. 4가지의 한약 재료의 총 추출량은 각각 250 ml로 측정되었으며, 4℃ 냉장보관 하여 실험에 이용하였다. 실험군은 formalin 주입군, distilled water (DW) 투여 30분 경과 후 5% formalin 주입군, 한약재료 추출물(용규, 포공영, 마치현, 토복령) 투여 30분 경과 후 5% formalin 주입군으로 분류하였다.

3. Formalin으로 유도한 급성안면부 통증

formalin으로 유도한 급성 안면부 통증반응은 Park[15]등의 연구에서 사용된 방법과 동일하게 수행하였다. 실험동물의 스트레스를 최소화하기 위해 플라스틱 통에 10분 이상 적응시켰으며 대조군(n=3)과 실험군(n=3)은 실험동물에 각각 distilled water 1mL과 한약재료 추출물 1 mL를 경구 투여 한 뒤 30분 경과 시 오른쪽 안면부에 5% formalin (50 μ L)을 인슐린 주사기(31 gauge)를 이용하여 주입하였다. 주입 직후부터 5분 간격으로 45분 동안 통증 행위 반응을 관찰하였으며 약물이 주입된 안면부를 문지르거나 긁는 행위를 관찰하였다.

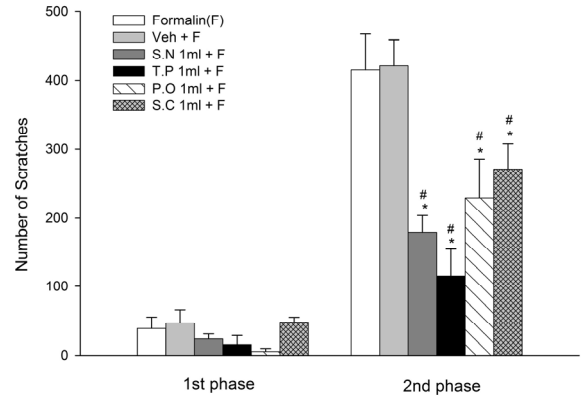
4. 통계분석

실험결과는 IBM SPSS Statistic ver. 22.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)을 이용하여 다중 그룹에서 일원배치 분산분석을 하였고, 사후분석은 LSD post-hoc test를 이용하였다. Sigmaplot 2001 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 그래프를 나타내었다. 모든 결과는 평균 \pm 표준오차 (standard error of the mean)로 표시하였고 통계적인 비교를 위하여 유의수준은 0.05로 설정 하였다.

III. 결과

1. 행위반응에서 용규, 포공영, 마치현, 토복령의 안면부 통증조절효과

실험동물의 안면부 피하에 formalin을 주입하여 유도한 안면부 통증 모델에서 한약재료 추출물 투여로 인한 통증행위 반응의 결과는 <Fig. 1>과 같다. 1차 통증행위반응은 formalin 주입군, 대조군(Veh+ F), 용규, 포공영, 마치현, 토복령 추출물 주입군 간의 유의한 차이가 없었으며, 2차 통증행위반응에서는 formalin 주입군, 대조군에 비해 한약재료 추출물 주입군 모두 통증행위반응이 유의하게 감소됨을 나타내었다.

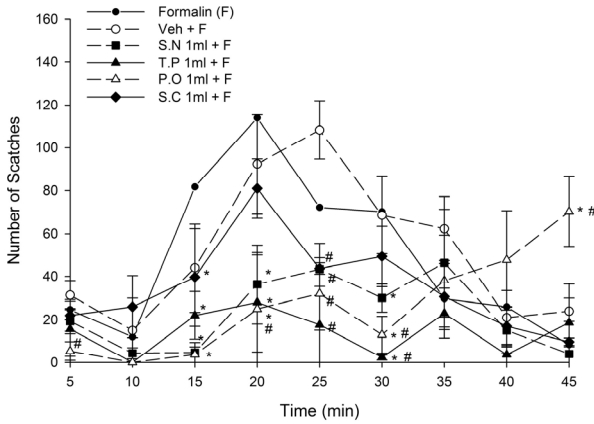


(Fig. 1) The effects of herb extracts on behavior responses following injection of formalin (5%, 50 μ l) into vibrissa pad. herb extracts reduced behavioral responses during the second phase compared with 5% formalin-treated group. * $p < 0.05$ vs. F, # $p < 0.05$ vs. vehicle (veh)+F.

S,N: *Solanum nigrum* L., T,P: *Taraxacum platycarpum*, P,O: *Portulaca oleracea* L., S,C: *Smilax china*

2. 시간흐름에서 용규, 포공영, 마치현, 토복령의 안면부 통증조절효과

통증행위반응은 시간의 경과에 따라 변화를 나타내었으며 한약재료 추출물 투여로 인한 통증행위반응의 조절효과는 <Fig. 2>과 같다. formalin의 주입으로 인한 통증행위반응은 15분 이후부터 증가하여 20분에 가장 높게 나타났으며 35분 까지 지속되다가 40분에 감소되었다. 한약재료 추출물 주입군의 경구 투여에서는 포공영이 20분에서 30분 사이 가장 유의하게 감소하였으며 마치현, 용규, 토복령 순으로 모두 통증행위반응이 유의하게 감소하였다.



(Fig. 2) Time response curve for number of scratches in formalin after administration of herb extracts, herb extracts significantly reduced formalin-induced nociceptive response at 15~40 min.(n=3 in each group). *p<0.05 vs. F, #p<0.05 vs. vehicle (veh)+F.

IV. 고찰 및 결론

통증은 많은 질환에서 나타나는 중요한 증상이다. 통증을 발생시키는 자극은 조직 손상, 염증발생 등에 의해 통증성 신경전달물질이 유리되고 신경전달물질이 세포막의 수용기에 작용하여 흥분성 활동전위를 야기한다. 말초의 자극에 의해 일차 구심성 신경이 활성화되어 전기적 임펄스를 발생하고, 이 신호가 일련의 신경전달과정을 거치면서 중추신경계에 전달되어 인지된다. 이러한 통증은 생체의 이상을 개체에게 알리는 경고신호로서 생체를 보호하기 위한 방어기전이다. 그러나 통증이 방어적인 역할을 다한 뒤에도 계속 남아있게 되면, 이 통증자체가 하나의 질병이 된다[1,16]. 구강안면부통증 (orofacial pain)은 두부, 안면 및 모든 구강 내 구조물의 경조직 및 연조직과 관련된 통증을 포함하는 용어로서, 치아질환을 비롯하여 측두하악장애 뿐 아니라 삼차신경통 같은 신경병성 통증까지 다양한 질환들이 유사한 형태의 동통으로 발현되므로 진단이 어려우며, 두통, 근골격성 통증, 신경성 통증, 심인성 통증, 압 등의 중요한 질환으로부터 발생하는 통증을 모두 포함하고 있다[17]. 이러한 통증을 조절하기 위해 마약성진통제, 비마약성진통제, 항정신성약물 그리고 비스테로이드성 소염진통제(nonsteroidal anti-inflammatory drugs,

NSAIDs)등을 사용하고 있으며, 이 중 NSAIDs의 치료 효과는 주로 cyclooxygenase (COX)-2의 억제로 이루어지고 COX-1의 억제는 위장관의 부작용을 일으킨다고 한다. NSAIDs는 현재 세계적으로 가장 많이 처방되고 사용되는 약이나, 현재까지 이러한 부작용을 피할 수 없는 것으로 되어있으며, NSAIDs는 많은 부작용을 가지고 있어 간, 신장, 피부, 위장관 등에 영향을 미치는데 특히 위장관에 발생하는 부작용은 COX-1 억제의 결과로 보고 있으며, 장관 점막의 보호작용과 항상성 유지를 담당하는 prostaglandin (PG)이 억제됨으로서 위장관 점막의 손상을 초래한다고 알려져 있다[18]. 따라서 COX-1보다는 COX-2를 선택적으로 저해하는 것이 염증 억제를 위해 중요하다. Jeong[19]의 연구에서는 아로니아 추출물의 항산화제와 항 알레르기 치료제로써의 유효성을 알아본 결과 COX-1과 COX-2의 저해 비율 비교를 통해 COX-2를 선택적으로 저해하고 있음을 확인하였으며, 천연물인 아로니아 추출물은 항산화 및 항알레르기 효능을 갖고있으며, 알레르기성 비염이나 아토피와 같은 알레르기관련 질병 치료에 유효하게 사용될 것이라 시사 하여[19], 천연물에 대한 효능을 입증하였다. 본 연구에 시약으로 사용된 한약재료 중 용규와 관련된 실험을 살펴보았을 때 Chang[20]은 용규를 메탄올에 추출한 추출물의 투여로 인간 골수 단핵구성 백혈병 세포에 대한 세포독성 및 Apoptosis 에 미치는 영향과 그 기전을 알아보았다. 그 결과 백혈병 세포를 자멸하게 유발하는 cytochrome C 유리양이 증가됨을 확인하였으며 [20], 포공영에 관한 Lee[21]등의 실험에서는 포공영의 에탄올 추출물의 중금속 중독에 의한 손상 억제 효과를 측정하였다. 현대 사회의 환경으로부터 오염이 우려되는 납과 수은을 실험동물에 노출시켰고 그 결과 포공영을 투여 받은 실험군은 중금속 투여로 인하여 발생하는 체중감소의 개선효과가 나타났으며, 혈액세포의 변화에 있어서도 중금속 노출로 감소되었던 RBC (red blood cell count)의 수를 증가시키고 동시에 증가된 WBC (white blood cell count) 및 platelet의 수를 정상수준으로 회복시켜 포공영 에탄올 추출물이 체내 노출된 납과 수은에 대한 독성을 완화시켜주는 것으로 확인하였다 [21]. Joo[22]등의 연구에서 마치현 추출물이 mouse macrophage RAW 264.7 cells의 세포생존율과 지질다당체 (lipopolysaccharide; LPS)로 유발된 RAW 264.7 cells의 nitric oxide (NO), vascular endothelial, growth factor (VEGF), platelet derived growth factor (PDGF)-BB 등의 염증촉발인자

(proinflammatory mediator)와 세포내 칼슘의 생성 증가에 미치는 영향을 측정하여, 대식세포에 독성을 유발하지 않으면서 LPS로 유발된 대식세포의 NO, VEGF, PDGF-BB, 세포내 calcium의 생성 증가를 억제하는 등의 항염 효능을 보고하였다[22]. 축노제통탕에 천연 진통제 및 항생제로 사용된 용규, 포공영, 마치현, 토복령의 효능을 선행 연구에서 확인하였으며, 이러한 한약재료의 효능을 기초로 하여 본 연구는 다양한 통증이 존재하는 구강안면부위 영역에 한약재료 추출물의 통증조절에 대한 효과를 확인하고자 하였다. 한약재료 추출물 투여 후 안면부 피하에 formalin을 주입하여 유발한 통증모델에서 포공영, 용규, 마치현, 토복령 순으로 안면부통증행위반응을 유의하게 감소시킴을 확인하였으며, 이번 연구에서는 축노제통탕에 천연항생제로 포함된 용규, 포공영, 마치현, 토복령 각각의 안면부 통증행위반응에 대해 실험하였으며 유의한 결과를 입증하였다. 후속 연구에서는 이들의 병용 효과에 대한 연구를 통해서 혼합시 나타날 수 있는 상승효과를 연구할 필요가 있다고 사료되며, 추가적인 연구를 통하여 향후 천연물 진통제 및 소염제 개발에 있어서 유용한 후보 물질이 될 수 있을 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Ko SH, Kang SK, Auh QS, Kim EC, Hong JP, Chun YH: Effect of Peripheral Opioid Receptor on Masticatory Muscle Pain Control. *Korean Journal of Oral Medicine* 38(2):164-174, 2013.
2. Kim YK, Lee MK: Analgesic Effects of Triptolide and N-nitro-L-arginine Methyl Ester in Rat's Temporomandibular Joint Pain Model. *Journal of Dental Hygiene Science* 15(6):800-806, 2015.
3. Kim JY: Political Economy of Traditional Knowledge: Bioeconomization of Korean Medicine and the Dispute on Botanical Drug. *Discourse* 201 17(1):77-111, 2014.
4. Park HR, Park EH: Development of Anti-Obesity functional foods in Herbal Medicine. *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society* 2:748-750, 2014.
5. Moon TC, Park JO, Chung KW, et al.: Anti-inflammatory Activity of the Flavonoid Components of *Lonicera japonica*. *Yakhak Hoeji* 43(1):117-123, 1999.
6. Kim HP, Son KH, Chang HW, Kang SS: Effects of Naturally Occurring Flavonoids on Inflammatory Responses and Their Action Mechanisms. *Natural Product Sciences* 6(4):170-178, 2000.
7. Kim HJ, Yoo MY, Kim KH, et al.: Vasorelaxation Effect of the Flavonoids from the Rhizome Extract of *Alpinia officinarum* on Isolated Rat Thoracic Aorta. *Kor. J. Pharmacogn* 37(1):56-59, 2006.
8. Kim HJ, Lee SG, Park SJ, et al.: Antioxidant Effects of Extracts from Fermented Red Ginseng Added with Medicinal Herbs in STZ-induced Diabetic Rats. *Korean Journal of Food Science and Technology* 44(3):367-372, 2012.
9. Ahn SK, Goo YM, Ko KH, et al.: Study on the Evaluation of Nutritional Values and Antioxidant Activities for Herbal Medicine By-products. *Journal of Agriculture & Life Science* 48(2):101-110, 2014.
10. Son GJ, Oh HJ, Lee JG, Nam SK, Kim CJ, Cho CS: Clinical Study of 25 Interstitial Cystitis Patients. *The Korean Journal of Internal Medicine* 33(2):222-230, 2012.
11. Cho SK, Kim MK, Lee JJ, Kwak YC, Lee SC, Lee Y: Effects of the *Solanum nigrum* L. and *Glycyrrhiza uralensis* Fisch for the Substitution of Antibiotics and the Performance on Broiler Chickens. *Korean Journal of Poultry Science* 36(3):215-222, 2009.
12. Lim AK, Kim JO, Jung MJ, Jung HK, Hong JH, Kim DI: Functional Biological Activity of Hot Water and Ethanol Extracts from *Taraxaci herba*. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 37(10):1231-1237, 2008.
13. Park SR, Han JW, Kang JY, Kil KJ, Yoo JH: Antioxidant Activities of Hot Water and Ethanol Extracts from *Portulacae herba*. *The Korea Journal of Herbology* 32(4):39-46, 2017.
14. Oh SW, Kim BW: Anti-inflammatory Effects of *Smilacis*

- Glabrae Rhizomain Raw 264.7 Cells. The Korean Journal of Internal Medicine 30(2):288–297, 2009.
15. Park MK, Lee JH, Yang GY, et al.: Peripheral administration of NR2 antagonists attenuates orofacial formalin-induced nociceptive behavior in rats. Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry 35(4):982–986, 2011.
 16. Min BI: Pain and pain control mechanism. The Korean Journal of Medicine 57(4):622–626, 1999.
 17. Choi SH, Kim KS, Kim ME, Lee DJ, Jin SB: Treatment Outcome and Prognosis of the Outpatients with Orofacial Pain. Korean Journal of Oral Medicine 31(2):155–165, 2006.
 18. Yang CH: Gastrointestinal disorders associated with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Dongguk Journal of Medicine 10(2):190–199, 2003.
 19. Jeong JM: Antioxidative and Antiallergic Effects of Aronia (*Aronia melanocarpa*) Extract. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition 37(9):1109–1113, 2008.
 20. Chang GT: Induction of Mitochondria-mediated Apoptosis by *Solanum nigrum* in Leukemia Cells. J Korean Oriental Pediatrics 22(1):113–121, 2008.
 21. Lee KH, Rhee KH: Effect of *Taraxacum mongolicum* Extract on Serum Heavy Metal Levels and Blood Parameters of Albino Rats Exposed to Lead and Mercury. Korean Journal of Environmental Agriculture 31(3):264–270, 2012.
 22. Joo JK, Han HS, Lee YJ: Anti-inflammatory Effect of Portulacae Herba Water Extract on Lipopolysaccharide-activated RAW 264.7 Macrophages. The Korea Journal of Herbology 31(1):61–67, 2016.