

모르핀의 耐性 및 依存性 형성에 미치는 人蔘의 效果(I)

—마우스에 대한 人蔘 부탄올 분획의 영향—

金 學 成 · 吳 世 觀

忠北大學校 藥學大學

(Received December 4, 1984)

Effects of Panax Ginseng on the Development of Morphine Induced Tolerance and Dependence (I). Effects of Ginseng Butanol Fraction in Mice

Hack-Seang Kim and Sei-Kwan Oh

College of Pharmacy, Chungbuk National University Cheongju 310, Korea

Abstract—The administration of ginseng butanol fraction(GBF) inhibited the development of tolerance to and physical dependence on morphine induced by morphine multiple injections in mice. Each group of mice was injected with morphine hydrochloride (40mg/kg s.c.) three times at 8 hr intervals for a period of 6 days. GBF (25, 50, 100, 200mg/kg) was injected(i.p.) to mice 1hr prior to the third morphine injection daily. Inhibition of morphine tolerance by GBF was evidenced by the increase in analgesic response to morphine hydrochloride (10mg/kg) as estimated by the tail flick method and the reduction in morphine dependence was estimated by the decreased number of the naloxone induced withdrawal jumping mice. Further evidenced that GBF reduced the development of morphine dependence was indicated by the fact that GBF decreased the loss in body weight.

모르핀의 진통효과는 매우 우수하나 연용하면 내성이 형성되고 사용을 중단하면 금단현상을 발현하기 때문에 모르핀 중독 해독제의 개발이 시급히 요청되고 있다. 인삼을 포함한 수종의 생약으로 처방된 민간약이 마약 해독제로 쓰이며 그 유효성분은 키틴산감의 keratine이라고 김 등¹⁾은 보고 하였으나 인삼에 관한 마약 해독제로써의 연구는 전혀 보고된 바 없다.

저자들은 이에 착안하여 마약 해독제의 개발을 위한 연구의 일환으로 인삼의 부탄올분획(이하 이 분획은 GBF라 함)이 마우스에 대한 모르핀의 내성 및 의존성에 미치는 영향등을 way등²⁾의 방법에 따라 모르핀과 인삼 부탄올분획을 만성투여한 후 진통작용³⁾⁴⁾⁵⁾, 체온변화⁶⁾⁷⁾⁸⁾, 체중변화⁵⁾⁸⁾⁹⁾, naloxone 유도로 인한 도약반응¹⁰⁾¹¹⁾등을 연구하여 새로운 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

실 험 방 법

재료 및 시약—본 실험에 사용한 인삼은 건조된 금산삼 4년근을 시중에서 구입하여 Namba등¹²⁾의 방법에 따라 추출하여 부탄올분획을 얻었으며 사용시에는 0.9% 식염 용액에 용해하였다.

morphine·HCl(대원제약), naloxon (Endo Lab., 삼진제약)등은 0.9% 식염용액에 희석하여 사용하였으며 GBF 추출시약은 시판 1급 시약을 사용하였다.

실험동물—대한 실험 동물연구소(경기도 고양군)에서 ICR계 웅성 마우스를 실험을 시작하기

1주일 전에 구입하여 본대학 동물사에서 시판 고품사료로 사육한 체중 20~25g의 마우스를 1군을 10마리로 하였다.

내성 및 의존성 유도—way등²⁾의 방법에 의해 오전 8시 부터 1일 3회 8시간 마다 morphine-HCl 40mg/kg을 6일 간 피하로 주사하여 모르핀의 내성 및 의존성을 유도하였고 인삼 부단율이 분획을 각군에 용량별로 (25, 50, 100, 200 mg/kg) 매일 3번째 모르핀 투여 1시간 전에 복강내 주사하였다.

진통성 내성 측정—만성 중독상태로 유도된 마우스의 모르핀 진통성 내성은 tail flick 장치를 이용하여 일정량의 모르핀 투여로 반응하는 진통효과의 증감정도를 비교하여 측정 하였다. 온도 자극에 의한 tail flick 반응시간은 마지막 모르핀 투여 8시간 후에 기본반응시간(T_0)을 정하고 모르핀 10mg/kg을 복강내 투여한 후 30, 60, 90분에 진통작용을 측정 하였다. 꼬리 피부의 손상을 방지하기 위하여 반응시간 10초를 cut off 시간으로 하였다. 각 마우스에 대한 진통효과는 다음식을 이용하여 계산하였다.¹³⁾

$$\text{Percent Analgesia} = \frac{T_t - T_0}{T_c - T_0} \times 100$$

T_0 : 모르핀 투여전 반응시간

T_t : 모르핀 투여 t분 후의 반응시간

T_c : 최장반응시간 (cut off time)

체온변화 측정—만성 중독상태로 유도된 마우스군에 마지막 모르핀 투여 8시간 후에 telethermometer (Natsume)를 이용하여 직장체온을 측정하고 모르핀 10mg/kg을 복강내 투여한 후 30, 60, 90분에 직장 체온을 측정하였다.

체중변화 측정—약물을 투여하기 직전에 체중을 측정하고 모르핀을 6일 동안 투여하여 내성이 유도된 후 naloxone 투여 직전에 체중을 측정하여 비교하였다.

Naloxone 유도로 인한 도약반응 측정—만성 중독상태로 유도된 마우스군에 마지막 모르핀 투여 8시간 후에 naloxone 4 mg/kg을 복강내 주사한 후 즉시 투명한 원통(반경 35cm, 높이 70 cm)에 넣고 30분 동안 도약반응의 발현 유무 및 횟수를 측정하였다.

진통작용, 체온변화, 체중변화 등은 GBF 처리군과 대조군을 비교하여 통계적 유의성을 Student's t-test로 검정하였으며 도약반응 발현유무에 대한 유의성은 Fisher test로 검정하였다.

실험 결과 및 고찰

GBF의 진통성 내성형성 억제효과—모르핀이나 GBF의 진통작용에 대한 잔류효과 유무를 확인하기 위하여 모르핀 10mg/kg 투여 30분 전에 용량별 각군에 대한 T_0 를 비교하였으나 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다(Table I).

모르핀 10mg/kg을 복강내 투여한 후 30, 60, 90분 후 진통작용을 측정한 결과 Fig. 1에 나타난 바와 같이 30분에서 모르핀과 생리식염수를 투여한 대조군은 11.0%의 진통효과를 나타내었고 모르핀과 GBF 25mg/kg 처리군은 15.9%, GBF 50mg/kg 처리군은 19.9%, GBF 100mg/kg 처리군은 25.9%, GBF 200mg/kg 처리군은 40.7%의 진통효과를 나타내어 유의성 있는 진통성 내성형성 억제 효과를 나타내었다. 60분과 90분에서도 진통효과는 같은 경향으로 나타났다.

GBF의 체온감하 억제효과—모르핀이나 GBF의 체온변화에 대한 잔류효과 유무를 확인하기

Table I—The base line of analgesia and temperature 8 hr after the last morphine injection in mice.

Treatment	Analgesia (sec)	Temperature, C
Mor + Sal	1.98 ± 0.08	36.60 ± 0.43
Mor + GBF 25mg/kg	1.93 ± 0.04	36.98 ± 0.27
Mor + GBF 50mg/kg	1.91 ± 0.09	36.97 ± 0.37
Mor + GBF 100mg/kg	1.97 ± 0.08	37.07 ± 0.38
Mor + GBF 200mg/kg	1.96 ± 0.07	37.08 ± 0.35

Morphine (40 mg/kg) was injected every 8 hours, saline or GBF was injected every 12 hours for a period of 6 days. Mor; Morphine, Sal; Saline, GBF; Ginseng Butanol Fraction.

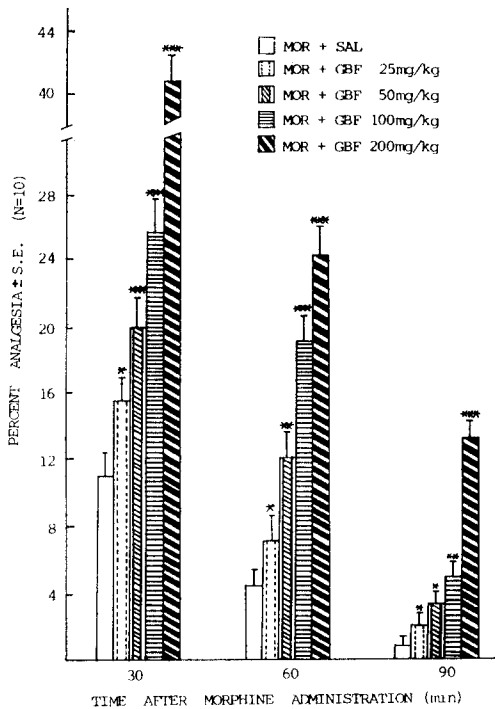


Fig. 1—Effects of GBF on tolerance to the analgesic action of morphine in mice.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

위하여 모르핀 10mg/kg 투여 30분 전에 용량 별 각군에 대한 체온을 비교하였으나 통계적으로 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다 (Table I). 모르핀 10mg/kg을 투여한 후 30, 60, 90분에 체온을 측정된 결과 Fig. 2에 나타난 바와 같이 30분에서 모르핀과 생리식염수를 투여한 대조군은 1.03°C 하강 하였으나

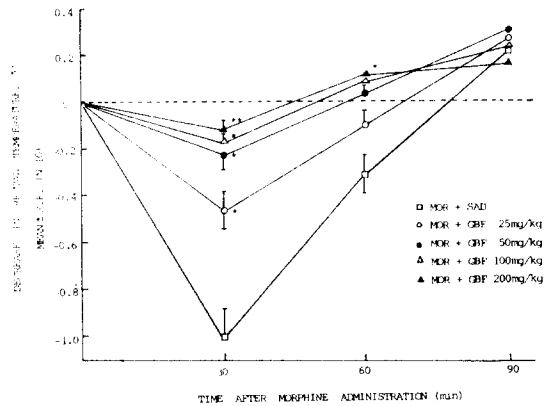


Fig. 2—Effects of GBF on tolerance to the hypothermic action of morphine in mice.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

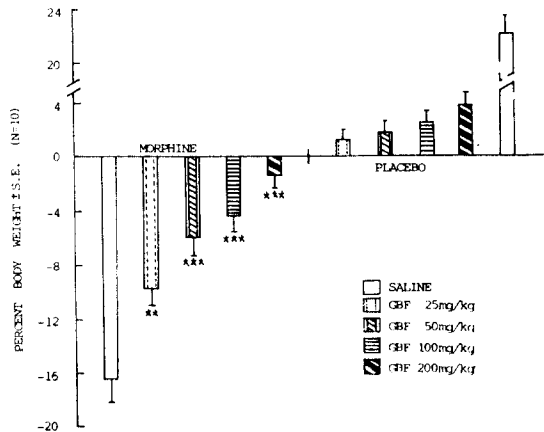


Fig. 3—Effects of GBF on growth of mice with multiple morphine injections.
** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

모르핀과 GBF 25mg/kg 처리군은 0.48°C, GBF 50mg/kg 처리군은 0.24°C, GBF 100mg/kg 처리군은 0.17°C, GBF 200mg/kg 처리군은 0.12°C씩 체온이 하강하여 GBF는 체온하강을 억제하였다.

GBF가 성장에 미치는 효과—모르핀을 6일동안 투여한 후 체중변화를 측정한 결과 Fig. 3에 나타난 바와 같이 모르핀 처리군은 모두 체중이 감소하였다. 모르핀과 생리식염수를 투여한 대조군은 16%의 체중감소를 나타낸 반면 모르핀과 GBF 25mg/kg 처리군은 9%, GBF 50mg/kg 처리군은 6%, GBF 100mg/kg 처리군은 4%, GBF 200mg/kg 처리군은 1%씩 체중감소를 나타내어 GBF는 모르핀 만성투여로 인한 체중감소를 유의성 있게 억제하였다.

GBF가 Naloxone 유도인한 도약반응에 미치는 효과—Naloxone 4mg/kg을 복강내 주사한 후 도약반응 발현유무 및 횟수를 30분 동안 측정한 결과 Table II에 나타난 바와 같이 모르핀을 처리하지 않은 군에서는 도약반응을 볼 수 없었으나 모르핀을 만성적으로 투여한 군에서는 도약반응이 나타났다. 모르핀만 투여한 대조군은 naloxone 주사 후 93%의 도약반응을 나타낸 반면 GBF 25mg/kg 처리군은 40%, GBF 50mg/kg 처리군은 30%, GBF 100mg/kg 처리군도 30%, GBF 200mg/kg 처리군은 20%의 도약반응을 나타내어 모르핀 만성투여로 내성이 형성된 마우스에 대하여 GBF는 naloxone 투여로 인한 도약반응(금단현상)을 유의성 있게 억제하였다.

Table II—Effects of GBF on the development of morphine dependence in the mice by the naloxone induced jumping response.

Treatment	No. of Mice jumped/tested	Mean (counts)±S.E. 0~30 min
A. Sal + Sal	0/10	0
B. Mor + Sal	14/15	95.5 ± 18.5
C. Mor + GBF 25mg/kg	4/10*	56.3 ± 12.9
D. Mor + GBF 50mg/kg	3/10***	49.6 ± 12.7
E. Mor + GBF 100mg/kg	3/10***	44.6 ± 11.6
F. Mor + GBF 200mg/kg	2/10***	51.8 ± 18.7

Effects of repeated morphine injections and concomitant GBF administration on the incidence of withdrawal jumping in mice receiving morphine hydrochloride(40mg/kg) every 8 hours for a period of 6 days. The withdrawal tests were performed 8 hours after the morphine dose, by challenging with naloxone (4 mg/kg). * p<0.05, ***p<0.001 compared with Mor+Sal group.

김등¹¹⁾은 인삼을 포함한 8종의 생약(인삼, 지황, 향부자, 당귀, 곽향, 보두, 감초, 천산갑)으로 처방된 민간약을 결손약물의 효과발현 유무를 관찰하는 방법으로 마약 중독자에게 투여한 결과 천산갑의 keratine이 유효성분이라고 보고하였다. 그러나 인삼의 부탄올 분획이 유효하게 모르핀에 의한 마우스의 내성 및 금단현상을 억제시킨 것은 실험동물의 종류, 성분추출방법, 투여량, 투여방법에 따라 효능이 다를 수 있다고 생각된다. 김등¹²⁾은 rat에 있어서도 GBF 투여 후 모르핀의 내성과 dopamine 수용체 초과민성 형성이 억제됨을 확인하였고 이 결과는 본 실험 결과와 일치되는 점이라 할 수 있다.

결 론

인삼의 부탄을 분획(GBF)이 용량별로(25, 50, 100, 200mg/kg) 마우스의 모르핀 내성 및 의존성 형성에 미치는 영향을 연구한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

모르핀 만성 중독상태로 유도된 마우스에 대하여 GBF는 용량에 따라 1. 모르핀의 진통성 내성을 현저하게 억제하였고 2. 모르핀 10mg/kg 투여로 인한 체온하강을 억제하는 경향을 나타내었으며 3. 모르핀 만성투여로 인한 체중감소를 억제 하였으며 4. 모르핀 금단현상인 naloxone 유도로 인한 도약반응을 억제 하였다.

본 연구는 1984~1985년도 문교부 학술연구조성비로 수행 되었다.

文 獻

1. Y.E. Kim, H.S. Suh, W.K. Kim and K.S. Kim, Studies on the animal hard tissue extract as an agent against narcotism. *Seoul Univ. J.* 18, 83 (1967).
2. E.L. Way, H.H. Loh and F.H. Shen, Morphine tolerance, physical dependence and synthesis of brain 5-hydroxytryptamine. *Science* 162, 1290 (1968).
3. F.C. Tulunay, M. Jen and H.H. Loh, Possible physiological control of morphine analgesia in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 83, 317 (1982).
4. J.W. Lewis, K.W. Bentley and A. Cowan, Narcotic analgesics and antagonists. *Ann. Rew. Pharmacol.* 11, 241 (1971).
5. I.K. Ho, S.E. Lu, S. Stolman, H.H. Loh and E.L. way, Influence of p-chlorphenylalanine on morphine tolerance and physical dependence and regional brain turnover studies in morphine tolerant-dependent mice. *J. Pharm Exp. Ther.* 182, 155 (1972).
6. R.F. Ritzmann, Walter and H.N. Bhargava, Effects of Pro-Leu-Gly-NH (MIF) on the central nervous system response to morphine. *Neuropeptides and Neural Transmission*(Ravan Press, New York, 1980). pp.351-357.
7. J.S. Mohrland and A.L. Craigmill, The effect of aggregation on the lethality of morphine in mice. *Archives internationales de pharmacody. et de Therapie* 236, 252 (1978).
8. R. Walter R.F. Ritzmann, H.N. Bhargava, T.C. Rainbow, L.B. Flexner and W.A. Krivoy, Inhibition by Z-Pro-D-Leu of development of tolerance to and physical dependence on morphine in mice. *Proc. Nat'l. Acad. Sci.* 7, 4573 (1978).
9. H.N. Bhargava, Modification of pharmacological and toxicological effects of acetophenazine and thioridazine in morphine dependence mice. *Arvhives internationales de pharmacodyn. et de Therapie* 238, 165 (1979).
10. E.L. Way, H.H. Loh and F. Shen, Simultaneous quantitative assessment of morphine tolerance and physical dependence. *J. Pharm. Exp. Ther.* 167, 1 (1969).
11. L.C. Iorio, M.A. Deacon and E.A. Ryan, Blockade by narcotic drugs of naloxone-precipitated jumping in morphine dependent mice. *J. Pharm. Exp. Ther.* 192, 58 (1975).
12. T. Namba, M. Yoshizaki, T. Tomimori, K. Kobashi, K. Mitsui and J. Hase. Chemical and biochemical evaluations of ginseng and related crude drugs. *Yakugaku Zasshi* 94, 252 (1974).
13. H.N. Bhargava, Cyclo (Leucylglycine) inhibits the development of morphine induced analgesic tolerance and dopamine receptor supersensitivity in rats. *Life Science* 27, 117 (1980).
14. H.S. Kim, S.K. Oh and G.C. Kim, Effects of Panax Ginseng on the development of morphine induced tolerance and physical dependence (II). Reported at 33rd annual convention of the pharmaceutical society of Korea, Seoul, October (1984).