생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
27(4) : 295~300(1996)

인삼노두 추출물의 위염 및 위궤양에 대한 효과

정춘식,* 정기화, 이은방[1]

덕성여자대학교 약학대학, [1]서울대학교 천연물과학연구소

Antigastritic and Antiulcer Actions of the Extract of Head of Panax ginseng Radix

Chun Sik Chung,* Ki Hwa Jung and Eun Bang Lee[1]

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea; and
[1]Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

Abstract – In a preliminary screening of plant extracts for the antigastritic and antiulcer actions in rats, the extracts of head of Panax ginseng Radix showed positive activity in HCl · ethanol-induced gastric lesion. Among the systematic fractions of hexane, chloroform, butanol and water, the most potent butanol fraction reduced significantly HCl · ethanol-induced gastric lesion at the oral dose of 500 mg/kg. In pylorus ligated rats, hexane and butanol fraction showed decreases in the volume of gastric secretion and acid output, of which effects were stronger in butanol fraction. Further assays with butanol fraction disclosed that it significantly suppressed the aspirin-induced and Shay ulcer. The butanol fraction at the intraduodenal dose of 500 mg/kg showed significant stimulation of mucus secretion.

Key words – Head of Panax ginseng Radix; Butanol fraction; Gastric ulcer; Gastritis.

인삼노두는 인삼(*Panax ginseng* C.A. Meyer)의 머리부분으로서 생장년수를 알수도 있으며, 기맥을 상행시키는 효과가 있어서, 허인에 유용한 것으로 되어있다.[1)] 그러나 이에 대한 약효연구는 거의 찾아볼 수 없었다.

이에 본 실험은 수종의 생약의 메탄올 엑스에 대한 위염 및 위궤양에 대한 효과를 추구한 바, 노두가 강력한 억제효과가 있음을 확인하였으므로, 이에 대한 분획을 실시하고, 그 유효성을 확인하였다.

재료 및 방법

재료 – 실험에 사용된 인삼노두(Head of Panax ginseng Radix)는 경동시장에서 구입한 후 세정, 건조하여 사용하였다.

시약 및 기기 – 실험에 사용한 시약으로서 pepsin, hemoglobin, aspirin, dioctyl sodium sulfosuccinate는 Sigma chemical Co., 그리고 alcian blue는 Alcian blue 8 GS standard(Fluka AG)를 사용하였다. Cimetidine은 중외제약의 에취-투 앰플, sucralfate(aluminum salt of sucrose octasulfate)는 중외제약의 제품을 구입하여 사용하였다. 기타 시약 및 추출용매는 시판 1급을 사용하였으며 용액의 제조는 증류수를 사용하였다.

기기로서 손상 및 궤양의 측정에 쓰인 현미경은 Kyowa Tokyo의 No. 870518을 사용하였으며 pH는 electrode pH meter를 사용하였고 UV/visible Spectrophotometer는 hp 8452 spectrophotometer를, 원심분리기기는 Du pont Instrument의 Sorvall RT 6000을 사용하였다.

*교신저자 : Fax 02-901-8386

실험동물 - 흰쥐는 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐와 ICR계 마우스를 21±2℃에서 2주이상 사육하여 적응시킨 후 실험에 사용하였고, 따로 언급이 없는 한 고형사료(삼양사료) 및 물을 충분히 공급하였다.

노두의 추출, 분획 및 검체 조제 - 노두를 세절하여 70% methanol로 환류장치를 한 용기에서 5시간 4회 수욕상에서 추출한 후 여과하고 여액을 감압농축하여 동결건조하였다. 추출물의 분획은 대상엑스를 소량의 methanol로 녹여서 hexane, chloroform 및 butanol로 계통적으로 분획하고 각 분획층을 감압 농축하여 건조시켰다. 검체는 생리식염수에 녹이거나 현탁하여 동물에 투여하였다.

HCl · ethanol액에 의한 위손상 - 체중 200 g내외의 수컷 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 24시간 이상 절식한 후 Mizui 등[2]의 방법으로 실험하였다. 즉 검체를 경구투여하고 30분 후에 HCl · ethanol(60% ethanol에 150 mM HCl을 함유) 1 ml를 경구투여하고, 절식 절수하에서 1시간 방치 후 ether로 치사시켜 위를 적출하여 유문부를 결찰하고 위내에 2% formalin용액 10 ml를 넣고 formalin용액에 10분간 담구어 고정하고 대만부를 절개하여 발생된 손상길이(mm)를 현미경(×10)하에서 측정하였다.

위액분비량, pH, 산도 및 산분비량 측정 - 체중 200 g내외의 수컷 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 24시간 이상 절식시킨 후 유문결찰하고 위액분비량을 Shay[3]의 방법으로 측정하였다. 즉 흰쥐를 ether 마취하여 개복하고 위의 유문부를 결찰하고 4시간 후에 치사시켜 위를 적출하여 위액을 채취했고 위액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 위액량, pH, 산도 및 산분비량을 측정하였다. 산도는 0.1 N NaOH로 phenol red를 지시약으로 하여 적정했으며 pH를 측정했다.

Pepsin 활성도 측정 - Anson 등[4]의 방법에 의해 pepsin 활성도를 측정하였다. 즉 흰쥐를 ether 마취하에 개복하고 위의 유문부를 결찰한 4시간후에 치사시켜 위를 적출하여 위액을 채취했고 위액을 3000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 pepsin 활성도를 측정하였다. 즉, 위액을 채취하여 10배 희석한 후, 37℃에서 그 0.2 ml를 산성화 hemoglobin액 1 ml와 10분간 배양 후 5% TCA용액 5 ml를 넣은 후 10분간 원심분리시킨다. 상징액에 0.5 N NaOH를 10 ml넣어 반응시킨 후 280 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검체는 위의 유문결찰 후 십이지장내로 주입하였다.

Aspirin유발 위궤양 - 체중 약 200 g내외의 수컷 흰쥐를 24시간 절식시킨 뒤 Okabe 등[5]의 방법에 따라 실험하였다. 즉, 절식시킨 쥐를 ether 마취하에 유문부를 결찰하고 즉시 검체를 십이지장에 주사하였다. 마취가 깨어나려고 할 때, aspirin 150 mg/kg을 경구투여하고 7시간만에 과량의 ether로 회생시킨 후 위를 적출하여 선위부에 발생된 위궤양의 길이(mm)를 산출하였다.

Shay 위궤양 - 체중 200 g내외의 수컷 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 24시간 이상 절식시키고 유문결찰한 후 위궤양을 Shay 등[3]의 방법을 이용하여 실험하였다. 즉, 흰쥐를 ether 마취하여 개복하고 위의 유문부를 결찰한 후 봉합한 다음, 12시간만에 흰쥐를 ether 치사시켜 위를 적출한 후에 2% formalin용액 10 ml를 넣고 formalin용액에 10분간 담구어 고정하고 대만부를 절개하여 발생된 궤양면적(mm^2)을 현미경(×10)하에서 측정하여 다음의 궤양지수 6단계 분류를 기준으로 표시하였다. 선위부에 손상이 발생되지 않은 경우의 지수를 0, 손상면적의 총화가 1-5 mm^2인 경우 1, 6-10 mm^2인 경우에 지수 2, 11-15 mm^2인 경우 3, 16-20 mm^2인 경우 4, 21-25 mm^2인 경우 5, 26 mm^2이상 또는 천공인 경우에 지수를 6으로 하여 평균을 구하였다. 검체는 위의 유문결찰 후 십이지장내로 즉시 주입하였다.

무수 ethanol 위손상에 의한 점액분비량 - 체중 200 g내외의 수컷 흰쥐 6마리를 1군으로 하여 24시간이상 절식시킨 후 Robert 등[6]의 방법에 따라 검체를 경구투여하고 30분만에 무수ethanol을 1 ml/100 g씩 경구투여하였다. 투여 1시간 후에 ether치사시켜 적출한 위점액량을 Kitagawa 등[7]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 적출한 위의 대만부를 절개하고 뒤집어서 선위부 점막면을 밖으로 노출시킨 후에 냉 0.25 M sucrose용액으로 선위부를 세척한 후 0.1% alcian blue 용액(0.16 M sucrose를 함유한 0.05M CH_3COONa로 조제)으로 실온에서 2시간 염색을 하였다. 다음 염색된 피복 점액층을 채취하고 부착된 alcian blue 결합점액은 30% dioctyl sodium sulfosuccinate를 함유한 70% ethanol 용액 20 ml로 30℃에서 2시간 추출하였

다. 3000 rpm으로 10분간 원심분리 후 그 상등액을 취하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. 점액량은 alcian blue의 검량선으로 부터 alcian blue의 양(μg)으로서 표시하였다.

급성독성실험 - 수컷 마우스 6마리를 1군으로하여 검체를 경구투여한 후, 행동의 이상유무를 관찰하고 72시간까지의 사망수를 측정하여 급성독성을 관찰하였다.

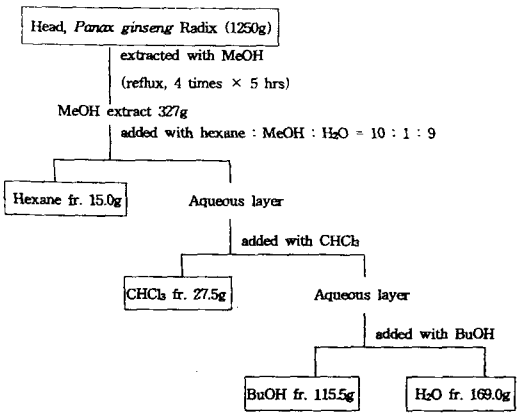
위궤양 및 위염의 억제율 계산 - 여러가지 실험방법에 의해 위염 및 위궤양을 유발시켰을 때 실험약물에 의한 위염 및 위궤양의 억제작용은 다음과 같이 그 지수 또는 길이의 억제율(%)로 나타내었다.

$$\text{억제율 (\%)} = \frac{\text{대조군의 지수(길이)} - \text{약물군의 지수(길이)}}{\text{대조군의 지수(길이)}} \times 100$$

통계처리 - 모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 대조군과 실험군간의 차이는 Sudent's *t*-test를 사용하여 p값이 5%미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

노두의 유기용매 추출물 및 분획물의 수득률 - 노두 1250 g을 70% methanol로 추출하여 methanol 추출물 327 g을 얻었다. 이를 hexane, chloroform, butanol 및 물가용부로 분획하여 각각 15.0 g(4.6%), 27.5 g(8.4%), 115.5 g(35.3%) 및 169.0 g(51.7%)를 얻었다. 여기서 butanol과 물분획물의 수율이 많은 것으로 보아 극성이 큰 용매에 많이 이행됨을 알 수 있다(Scheme 1).



Scheme 1. Extraction and fractionation of head of Panax ginseng Radix.

HCl · ethanol 위손상에 대한 작용 - 시료를 계통분획한 후 각분획을 흰쥐에 경구투여한 경우 HCl · ethanol 위손상에 대한 방어작용실험결과는 Table 1과 같다. Chloroform및 butanol분획물 투여군에서 각각 54.8($p<0.05$) 및 56.2%($p<0.01$)의 위손상 억제작용을 나타내었다. 이는 cimetidine 150 mg/kg을 경구투여한 것보다 효과가 좋음을 나타내었다.

위액분비량, pH, 산도 및 산분비량 측정 - 24시간 절식시킨 흰쥐를 유문결찰한 후 hexane, chloroform, butanol 및 물분획을 각각 100, 150, 500 및 700 mg/kg을 투여한 뒤 4시간동안 축적된 위액으로 부터 위액분비량, pH, 산도 및 4시간동안 생성된 위액의 총산량을 측정하였으며 그 결과는 Table II와 같다.

각 분획물을 경구투여하였을 때 pH의 변화에 아무 영향을 주지 못하였으며 물 분획물에서만 위액분비가 유의적으로 감소되었다. 대조약물인 cimetidine 투여시에는 pH에서 유의성있는 증가를 나타내었으며 위액분비량 및 산분비량에서 유의성있는 억제를 나타내었다.

Pepsin 활성도 측정 - 흰쥐를 유문결찰한 후 각 분획물을 십이지장내에 투여하여 4시간 후에 채취한 위액에 대한 pepsin 활성도는 Table III에 나타내었다. 대조군에 비해 모든 분획물 투여군에서 감소하는

Table I. The effect of fraction of head extract of Panax ginseng Radix on HCl · ethanol-induced gastric lesion in rats

Treatment	Dose (mg/kg, *p.o.*)	No. of animals	Lesion length (mm, M± S.E.)	Inhibition (%)
Saline	-	6	47.5± 2.4	-
Hexane fr.	100	6	78.3± 9.1*	-
$CHCl_3$ fr.	150	6	21.7± 4.3*	54.3
BuOH fr.	500	6	20.8± 1.5**	56.2
H_2O fr.	700	6	50.9±11.1	-
MeOH	1500	6	3.5± 1.3**	92.6
Cimetidine	150	6	51.0± 9.9	70.5

*Significantly different from the control group ($p<0.05$). **Significantly different from the control group ($p<0.01$).

Table II. The effect of fractions of head extract of Panax ginseng Raidx on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Treatment	Dose (mg/kg, *i.d.*)	No. of animals	pH	Volume (ml/4 hrs, M±S.E.)	Acid output (μEq/4 hrs, M±S.E.)
Saline		5	1.23±0.09	5.5±0.7	592.6±113.6
Hexane fr.	100	5	1.64±0.39	4.4±0.7	404.9±117.7
$CHCl_3$ fr.	150	4	1.41±0.24	6.7±0.7	724.4±103.7
BuOH fr.	500	4	1.15±0.04	4.6±1.2	492.7±159.1
H_2O fr.	700	4	1.12±0.02	7.6±0.4*	878.8± 72.5
Cimetidine	150	4	3.15±0.56	1.8±0.3**	75.9± 22.2**

*Significantly different from the control group ($p<0.05$). **Significantly different from the control group ($p<0.01$).

Table III. The pepsin activity of fractions of head extract of Panax ginseng Radix on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Treatment	Dose (mg/kg, *i.d.*)	No. of animals	Pepsin activity (μg tyrosine/ml, M±S.E.)
Saline	-	6	11.46±1.28
Hexane fr.	100	6	10.22±1.64
$CHCl_3$ fr.	150	6	8.50±2.16
BuOH fr.	500	6	9.03±1.06
H_2O fr.	700	6	7.28±0.74
Cimetidine	150	6	8.83±1.85

Table IV. The effect of butanol fractions of head extract of Panax ginseng Radix on aspirin-induced ulcer in rats

Treatment	Dose (mg/kg, *i.d.*)	No. of animals	Lesion length (mm, M±S.E.)	Inhibition (%)
Saline	-	6	23.6±1.8	-
BuOH fr.	250	6	11.8±2.6*	50.0
	500	6	9.3±1.7**	60.6
Cimetidine	150	6	5.8±0.7**	75.4

*Significantly different from the control group ($p<0.05$). **Significantly different from the control group ($p<0.01$).

경향을 보였을 뿐 유의성있는 차이는 아니었다.

Aspirin 유발 위궤양에 대한 작용 - 상기의 위염 모델에서 butanol 분획물이 제일 강력한 분획이었으므로 이를 검체로 하여 이후의 실험을 실시하였다. 즉, aspirin 유발 궤양에 대하여 실험한 결과를 Table IV에 표시하였다. Butanol분획의 검체는 250 mg/kg의 용량을 투여하였을 때 50.0%($p<0.01$), 500 mg/kg의 용량을 투여하였을 때 60.6%($p<0.001$)의 억제효과를 나타내었으며 대조약물인 cimetidine의 투여에서 75.4%의 억제효과를 나타내었으며 모두 대조군에 비하여 유의성있는 억제이었다.

Table V. The effect of butanol fractions of head extract of Panax ginseng Radix in Shay ulcer of rats(12hrs, ligation)

Treatment	Dose (mg/kg, *i.d.*)	No. of animals	Ulcer index (M±S.E.)	Inhibition (%)
Saline	-	7	3.9±0.8	-
BuOH fr.	500	6	1.7±0.3*	56.4
Cimetidine	150	6	1.5±0.3*	61.5

*Significantly different from the control group ($p<0.05$).

Shay위궤양에 대한 작용실험 - Butanol 분획에 대한 Shay궤양 실험결과는 Table V와 같다. Butanol분획 500 mg/kg을 십이지장에 투여하였을 때 위궤양을 유의적으로 억제하였다($p<0.05$).

무수 ethanol 위손상에 의한 점액분비량에 미치는 작용 - 24시간 절식시킨흰쥐에 무수ethanol을 경구투여한 뒤 위점액량에 대한 결과는 Table VI에 표시하였다. 무수 ethanol투여 후 대조군에서 위점액량이 142.7 g인데 비해 검체 500 mg/kg을 경구투여한 군에서는 점액량이 410.7 μg으로 유의적으로 증가하였다($p<0.05$).

급성독성실험 - 검체 투여 후 72시간까지의 사망수를 관찰한 급성독성 실험의 결과는 Table VII과 같다. 검체 5000 mg/kg을 마우스에 경구투여시 6마리중에서 1마리도 사망하지 않아 이 검체의 경구투여시 최소치사량은 5000 mg/kg이상이었음을 알 수 있었고 이때의 동물의 행동이상을 관측할 수 없었다.

Table VI. The effect of butanol fraction of head of Panax ginseng Radix on absolute ethanol-induced gastric lesion in rats

Treatment	Dose (mg/kg, *p.o.*)	No. of animals	Mucus contents**
Saline	-	8	142.7±30.4
BuOH fr.	250	6	187.8±26.0
	500	6	410.7±97.7*
Cimetidine	150	6	152.4±37.8

*Significantly different from the control group ($p<0.05$). **μg as alcian blue, M±S.E.

Table VII. Mouse mortality by butanol fractions of head extract of Panax ginseng Radix in mice

Animal	Sex	No. of animals	Route of Administration	Minimum LD (mg/kg)
Mouse	male	6	*p.o.*	> 5000[a]

[a]Six Animals were alive.

고 찰

인삼의 근경 윗부분인 노두는 죽여를 가해 최토제로 사용하고 있으므로 그 추적의 일환으로서 본 연구는 노두의 소화기계작용을 실험한 것이다.

노두의 methanol 추출물은 HCl · ethanol 위손상에서 억제효과를 보였다. 이를 다시 hexane, chloroform, butanol 및 물층으로 계통분획하여 각 층을 HCl · ethanol 위손상 모델에 적용시켜 실험한 바 butanol분획물, 그 다음이 chloroform분획물에서 강한 효과를 보았다. 또한 위액분비량을 가장 감소시킨 butanol분획물이 aspirin 유발위궤양, Shay 위궤양실험에서 유효한 억제작용을 보였으며 무수 ethanol에 의한 위점액량 분비 감소를 반전시켰다.

Okabe 등[5]은 유문결찰에 의해 4시간 축적된 흰쥐의 위액을 이용하여 실험하였을 때 위액분비량은 4-8 ml, 산도는 50-140 Eq/hr를 갖는다고 보고하고 있으며 본실험의 대조군과 비교시 비슷한 결과를 갖는 것으로 나타났다.

Ohno 등[8]은 aspirin에 의한 위손상은 aspirin이 PG의 생합성을 억제하여 과량의 축적된 위액으로 인하여, 산 및 pepsin이 증가되어 위 점막을 파괴하거나 산의 역확산(back diffusion)을 증가시켜 위의 mucosal barrier를 파괴시키거나 위점막 미세혈관의 울혈 그리고 혈관투과성을 증가시킴으로써 위손상을 일으킨다고 보고하고 있다.

방어인자의 증강으로 인한 위세포의 보호작용을 관찰하기 위하여 위점막에 존재하는 점액량을 측정하였다. 위점액은 stomach lining에서 분비되는 것으로 효소, 세포산물, 혈청단백 및 점액질 등의 혼합물로서 Allen 등[9]은 위점막의 pH gradient를 연구하던 중 점막표면에 luminal H^+를 중화하는 점액이 있다는 것을 발견하게 되었고 Heatley 등[10]은 점막 상피세포가 HCO_3^-을 분비하여 mucosal gel을 침투하는 H^+을 중성화시켜 점막표면에 침투하는 것을 방지한다고 보고하였다.

본 연구를 통해 노두가 위산분비를 감소시키고 점액의 분비를 증가시키면서 위점막을 보호하는 cyto-protection하는 성질을 모두 가지며 항위염 및 항위궤양작용을 가짐을 알 수 있었다. 또한 이 검체는 급성독성이 매우 약함을 알 수 있었다.

결 론

여러가지 생약을 이용하여 실험한 결과 인삼노두가 위염 및 위궤양에 효과가 있음을 확인하고 노두엑스를 계통분획하여 급성독성 및 항위염 및 항위궤양작용에 대하여 실험한 바, 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 노두의 methanol추출물을 hexane, chloroform, butanol 및 H_2O분획물을 얻었다.
2. 노두의 각분획물에 의한 HCl · ethanol 위손상 실험에서 butanol분획물 이 가장 강력한 억제작용이 있었다.
3. Aspirin 위궤양 실험에서 butanol분획 250 mg/kg 및 500mg/kg에서 유의성 있는 억제효과를 나타내었다.
4. Shay 위궤양 실험에서 butanol분획 500 mg/kg 투여시 궤양지수를 유 의성있게 감소시켰다.
5. 무수 ethanol 위손상 실험에서 butanol분획 250 mg/kg과 500 mg/kg이 위 내 점액량을 증가시켰으며 특히 500 mg/kg에서 유의성이 인정되었다.
6. 노두의 butanol분획물 대한 마우스의 급성독성 실험 결과, 경구투여시 최소 치사량은 5000 mg/kg 이상이었다.

사 사

본 연구는 1995년도 교내 연구비 및 95년도 과기처 선도기술개발과제 연구비의 일부 지원에 의해 수행된 것으로 연구비 지원에 감사드립니다.

인용문헌

1. 허 준 원저, 동의보감 국역위원회 역편(1989) 국역증보 동의보감, 502. 남산당, 서울.
2. Mizui, T. and Doteuchi, M. (1983) Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastic lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 33: 939-945.
3. Shay, H., Komarov, S. A., Fels, S. S., Merance, D., Gruenstein, M. and Siplet, H. (1945) A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rats. *Gastroenterol.* 5: 43-61.
4. Anson, M. L. J. (1938) The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physio.* 22: 79-89.
5. Okabe, S., Takeuchi, K., Nakamura, K. and Takagi, K. (1974) Pathogenesis of gastric lesions induced by aspirin in the pylorus-ligated rat. *Jpn. J. Pharmacol.* 24: 363-371.
6. Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C. and Hanchar, A. J. (1979) Cytoprotection by prostaglnadins in rats. *Gastroenterol.* 77: 433-443.
7. Kitagawa, H., Takeda, F. and Kohei, H. (1986) A simple method for estimation of gastric mucus and effect of antiulcerogenic agents on the decrease in mucus during water-immersion stress in rats. *Arzneim-Forsch.* 36: 1240-1244.
8. Ohno, T., Ohtsuki, H. and Okabe, S. (1985) Effects of 16, 16-Dimethyl prostaglnadin E_2 on ethanol-induce and aspirin-induced gastric damage in the rat. *Gastroenterol.* 88: 353-361.
9. Allen, A. and Garner, A. (1980) Mucus and bicarbonate secretion in the stomach. *Gut* 21: 249-262.
10. Heatley, N.G. (1959) Mucosubstance as a barrier. *Gastroenterol.* 37: 313-317.

(1996년 9월 24일 접수)