

애엽추출물, DA-9601의 실험적 위궤양 모델에 대한 항궤양 효과 및 기전 연구

오탈영, 류병권, 박정배, 이상득, 김원배, 양중익, 이은방*
동아제약(주) 연구소, 서울대학교 천연물과학연구소*

Studies on Antiulcer Effects of DA-9601, an *Artemisia herba* Extract against Experimental Gastric Ulcers and Its Mechanism

Tae Young OH, Byung Kweon RYU, Jeong Bae PARK, Sang Deuk LEE, Won Bae KIM,
Junnick YANG and Eun Bang LEE*

Research Laboratories, Dong-A Pharm. Co., Ltd.
47-5, Sanggal-ri, Kiheung-up, Yongin-Si, Kyunggi-do 449-900, Korea

*Natural Products Research Institute, Seoul National University Seoul 110-460, Korea

(Received March 20, 1996; accepted June 20, 1996)

Abstract - Antiulcer effects of *Artemisia herba* extract (DA-9601) were evaluated in various types of experimental gastric ulcer induced in rats. And the effects of DA-9601 on mucus, basal and stimulated gastric acid secretion were also investigated in rats. DA-9601 (12.5~400 mg/kg, p.o.) prevented the formation of gastric ulcers induced by 60% EtOH in 150 mM HCl, restraint water immersion stress, platelet activating factor (PAF), aspirin in 150 mM HCl with Pylorus-ligation and indomethacin. DA-9601 (4~400 mg/kg, p.o.) significantly accelerated the healing rate of acetic acid-induced gastric ulcer and significantly stimulated mucus secretion in a dose-dependent manner. DA-9601 (20~200 mg/kg, i.d.), however, did not inhibit basal gastric acid secretion in pylorus ligated rats and DA-9601 (200 mg/kg, i.d.) failed to influence histamine-, pentagastrin- and carbachol- stimulated gastric acid secretion. These results suggest that DA-9601 has inhibitory action on gastric lesion and ulceration through increasing mucus secretion in the stomach of rats without influencing basal and stimulated gastric acid secretion.

Keywords □ *Artemisia* extract, DA-9601, antiulcer effect, mucus secretion, basal acid secretion, stimulated acid secretion

애엽은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본인 약쑥(*Artemisia asiatica* Nakai)의 건조잎으로서 줄기가 곧게 서며 줄기면에 털이 있고 높이는 약 60~90 cm이다. 잎은 장란형이고 위상으로 분열하며 열편은 피침형으로 끝이 날카롭고, 대개 톱니가 없으며 뒷면에는 백모가 있다. 꽃은 엷은 홍색으로 8~10월에 피며, 양성이고 화탁은 나출한다. 과실은 수과이며 관모는 없다(陸, 1989). 애엽은 낙엽 활엽 관목인 더위지기(인진호, *Artemisia iwayomogi* Kitamura)와 구별되며, 전국 각지에서 야생하고, 예로부터 어린 잎은 식용으로 이용되어 왔다. 한방에서는 지혈, 강장보혈에 효과가 있다고 알려져 있으며, 부인병약과 전위제, 설사치료제, 땀속의 원료로 사용되어 왔다(許, 1984; 陳, 1984). 약쑥의

혈관확장, 최담, 항균, 항간독작용 및 이노작용에 대해서는 알려져 있으나, 위·장관에 대한 연구는 없었다. 최근 서울대학교 천연물과학연구소 이은방 교수팀은 애엽의 추출분획중 메탄올 분획에서 강력한 항궤양 작용이 있음을 발견하였고, 이러한 항궤양작용을 나타내는 성분을 단리한 결과 flavonoid 화합물인 유파틸린임을 확인하였다(Lee, 1995). 또한 애엽의 메탄올추출물이 유파틸린의 함량에 비해 높은 효력을 갖고 있음이 동물실험에서 확인되어 성분연구중 애엽추출물중에는 유파틸린과 유사한 구조를 갖는 다른 항궤양성분이 함유되어 있음이 확인되었다(미발표). 본 연구에서는 애엽추출물의 항궤양작용을 여러가지 실험궤양모델에서 기존의 항궤양제와 효력을 비교하고 점액분비에 미치는 영향, 기초 산 및 자극 산분비에 대한 영향 등의 일부의 작용기전을 검토하고자 하였다.

*To whom correspondence should be addressed.

실험방법

시료

실험에 사용한 시료는 애염을 주정으로 추출한 후, 감압 농축한 건조엑스로서 지표성분인 유효티린 함량은 0.50%이였으며, 대한약전에 근거하여 생약추출물에 대한 규격 및 기준시험에 적합한 원료이며 롯데번호 L-01을 사용하였다.

시약 및 기기

Rebamipide는 한국오츠카(주), ranitidine은 Sigma사, cetraxate는 제일약품(주)으로부터 구입하여 사용하였다. DA-9601, rebamipide, cetraxate는 5% HPMC(hydroxypropylmethyl cellulose) saline 용액에 현탁하여, ranitidine은 주사용증류수에 용해하여 투여하였으며, control 군에 5% HPMC saline용액을 투여하였고 모든 약물은 실험 직전에 조제하여 사용하였다. DA-9601과 대조약물의 용량단계는 예비시험을 통하여 약효를 충분히 나타낼수 있는 범위에서 설정하였다.

Acetylsalicylic acid, acetic acid(glacial), bovine serum albumin(BSA), carbachol, dioctyl sulfosuccinate(DSS), 10% formalin, hemoglobin(from bovine serum), histamine, pentagastrin, phenol red, PAF(platelet activating factor), sodium acetate, sodium hydroxide, sucrose, trichloroacetic acid (TCA), tyrosine, alcian blue, periodic acid-Schiff(PAS) staining system kit(lot No. 034H4253) 등은 Sigma사에서, urethane은 Aldrich사에서, absolute ethanol, ether, 염산 등은 덕산약품(주)에서 구입하였다. Stress cage(265×95×200 mm)와 polyethylene tube(sp45, I.D. 0.58 mm, O.D. 0.96 mm)는 일본 Natsume사, microliter syringe(50 μ l)는 미국 Hamilton사에서 구입하여 사용하였다. UV visuable spectrophotometer(DMS 100S)는 미국 Varian사, refrigerated centrifuge(05PR-22)는 일본 Hitachi사, infusion pump(KD 300)는 미국 KD scientific사의 제품을 사용하였다.

실험동물

실험 동물은 Sprague-Dawley(SD)계 음성 랫드로서 7주령의 특정 병원체 부재(SPF) 동물을 일본 Charles River Japan으로부터 구입하여 1주간 검역 및 순화사육을 거쳐 외견상 건강한 동물(220~280 g)을 시험에 사용하였다. 사육기간중 온도는 23±2℃, 습도는 40~70%, 조명시간은 12시간(7:00~19:00)을 유지하였고 사료와 음수는 자유롭게 섭취시켰으며, 실험 1시간 전에 절수시켜 사용하였다.

HCl-EtOH 위염

랫드를 24시간 절식시킨 후에 Mizui 등(1983)의 방법에 의해 약물을 경구 투여하고 1시간 후에 150 mM HCl액으로 만든 60% EtOH(ethanol)액을 랫드에 1.5 ml씩을 경구 투여한 다음 다시 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내로 주입하고 1% for-

malin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(gastric lesion, mm²)을 측정하고 용매투여군과 비교하여 아래의 계산식으로 위병변 억제율을 구하였으며, regression analysis를 통하여 ED₅₀(mg/kg)를 계산하였다.

치료율(%) =

$$\frac{\text{대조군의 위병변면적(mm}^2\text{)} - \text{약물투여군의 위병변면적(mm}^2\text{)}}{\text{대조군의 위병변면적(mm}^2\text{)}} \times 100$$

수침·구속 Stress 위궤양

Takagi 등(1968)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식시킨 후에 약물을 경구 투여하고 30분 후에 stress cage에 넣어 검상돌기가 물에 잠기도록 물 속에 넣고 수온을 21±1℃로 유지하며 8시간 동안 방치하였다. Ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내에 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(mm²)을 측정하고 HCl-EtOH 위염에서와 동일한 방법으로 위병변 억제율과 ED₅₀ (mg/kg)를 계산하였다.

PAF 위궤양

Whittle 등(1987), Rosam 등(1986), Steel 등(1987)의 방법과 Yamasaki 등(1989)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식시킨 후에 약물을 경구 투여하고 1시간 후에 PAF를 4 μ g/kg 용량으로 정맥내로 투여하였다. 1시간 후에 ether로 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(mm²)을 측정하고 HCl-EtOH 위궤양과 동일한 방법으로 위병변 억제율 및 ED₅₀ (mg/kg)를 계산하였다. PAF는 0.25% BSA(bovine serum albumin)에 용해하여 실험 직전에 0.25% BSA로 희석하여 사용하였다.

Aspirin 위궤양

Guth 등(1979)의 방법과 Okabe 등(1974)의 방법을 조합하여 랫드를 24시간 절식시킨 후에 약물을 경구 투여하고 1시간 후에 ether 마취하에 개복하여 위 유문부를 결찰하고 aspirin (150 mM HCl-CMC 현탁액) 200 mg/kg을 십이지장내로 투여하고 7시간 후에 ether로 치사하였다. 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(mm²)을 측정하고 HCl-EtOH 위궤양과 동일한 방법으로 위병변 억제율 및 ED₅₀ (mg/kg)를 계산하였다.

Indomethacin 위궤양

Urshidani 등(1977)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식

시킨 후에 약물을 경구 투여하고 1시간 후에 indomethacin 40 mg/kg을 경구투여하였다. 6시간 후에 ether로 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경 (Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(mm²)을 측정하고 HCl-EtOH 위염에서의 동일한 방법으로 위병변 억제율 및 ED₅₀ (mg/kg)를 계산하였다. Indomethacin은 0.5% CMC액에 현탁하였다.

초산 유발 아만성 위궤양

Okabe와 Pfeiffer(1972)의 방법에 의해 랫드를 비절식하에 ether로 마취하여 개복하고 위를 노출시킨 후에 microliter syringe를 이용하여 10% 초산 50 μl를 선위부 유문 쪽의 장막하 조직층 안으로 주입하고 복부를 면사로 봉합하였다. 수술후 2일째로부터 10일간 오전 10:00에 1일 1회 약물을 경구 투여하였다. 최종 투여후 24시간 절식시키고 ether로 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13 ml를 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경 (Olympus, ×10) 하에서 위병변 면적(mm²)을 측정하고 HCl-EtOH 위염의 경우와 같이 치료율(%) 및 ED₅₀ (mg/kg)를 계산하였다. 또한 점막재생촉진 효과를 관찰하기 위하여 통상적인 방법에 의해 위점막조직표본을 제작하고 궤양 치유정도를 평가하기 위해 Mowry's alcian blue-PAS염색 (Haas, 1981)을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

위점액량

Kitagawa 등(1986)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식시킨 후에 약물을 경구 투여하고 1시간 후에 무수 EtOH를 0.5 ml/100 g 경구 투여하였다. 1시간 후에 ether로 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 0.25 M 냉 sucrose액 10 ml를 위내로 주입하여 세척하고 0.1% alcian blue액을 위내로 13 ml 주입하였다. 2시간 동안 염색하고 위 대만부를 절개하여 0.25 M 냉 sucrose액에 넣어 2~3회 세척한 후 염색된 점액층을 채취하고 30% DSS(Dioctyl Na sulfosuccinate) EtOH액으로 2시간 동안 30°C의 water bath에서 추출하였다. 추출액을 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층을 취해 620 nm에서 흡광도를 측정하였다. Alcian blue 표준품으로 검량선을 작성하고, 이 검량선으로부터 alcian blue의 양(μg)을 측정하였다. 점액 분비량의 측정은 점액을 구성하는 glycoprotein이 ester sulfate와 sialic acid의 결합물이 탄수화물로 음전하 된 것으로 cation dye인 alcian blue를 이용하여 glycoprotein 양을 계산하였다(Corne 등, 1974). Sucrose와 alcian blue는 증류수에 용해하여 사용하였다.

기초산 분비

Shay 등(1945)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식시킨 후에 ether 마취하에 유문부를 절찰하고 약물을 십이지장내

로 투여한 후 면사로 봉합하였다. 절수, 절식하에 5시간 동안 방치한 후 ether 마취하에 위를 적출하였다. 위액을 받아 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층을 분리하여 위액량(ml), pH, acid output을 측정하였다. 위액은 phenol red를 지시약으로 하여 황색에서 분홍색이 되는 점을 종말점으로 하여 0.01 N NaOH로 적정하였다. 0.01N NaOH 소비량(ml)에 위액량을 곱하여 acid output(mEq/5 hr)으로 하였다. Anson(1938)의 방법에 의해 위액 일부를 생리식염수로 20배 희석한 후 희석액 0.1 ml에 2.5% hemoglobin (pH 2) 1 ml를 가하여 37°C의 water bath에서 5분간 배양하였다. 4% TCA(trichloroacetic acid) 5 ml를 가하고 2,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 280 nm에서 흡광도 측정을 하였다. Tyrosine 표준품으로 검량선을 작성하고 이 검량선으로부터 pepsin activity를 측정하였으며, pepsin activity에 위액량(ml)을 곱하여 pepsin output(μg/5 hr)으로 하였다. Hemoglobin과 tyrosine은 증류수에 용해하여 사용하였다.

자극산 분비

Ghosh와 Schild(1958)의 방법과 Ishizuka 등(1994)의 방법에 의해 랫드를 24시간 절식시킨 후에 urethane(1.2g/kg, i.p.)으로 마취하였다. 개복후에 식도를 통하여 분문으로 polyethylene tube를 삽입하고 분문을 절찰하였으며, 십이지장을 통하여 유문으로 polyethylene tube를 삽입하고 유문을 절찰하였다. Infusion pump를 이용하여 식도 쪽의 polyethylene tube로 37°C의 생리식염수를 1.5 ml/5 min 속도로 관류하였다. 관류액을 십이지장 쪽의 polyethylene tube를 통하여 15분 간격으로 받고 위액량과 pH를 측정하고 phenol red를 지시약으로 하여 황색(yellow)에서 분홍색(pink)이 되는 점을 종말점으로 하여 0.01 N NaOH로 적정하여 소비량(ml)을 측정하였다. 약물은 십이지장내로 투여하고 30분 후에 자극 물질(histamine 2 mg/kg, pentagastrin 500 μg/kg, carbachol 30 μg/kg)을 근육내로 투여하였다. 약물 투여 후 2시간 30분 동안 위액을 받아 위액량, pH, 0.01N NaOH 소비량(ml)을 측정하였다. Histamine, carbachol은 주사용증류수에, pentagastrin은 생리식염수에 용해하여 사용하였다.

통계처리

각 약물의 효력을 unpaired Student's *t*-test를 이용하여 대조군과 시험물질의 궤양지수를 비교하여 유의성(p<0.05)을 검정하였다.

실험결과

HCl-EtOH 위염에 대한 영향

60% EtOH (150 mM HCl) 투여에 의해 띠모양으로 선상의 출혈에 의한 위점막 손상이 관찰되었다. 애염추출물인

DA-9601 및 cetraxate는 용량의존적으로 위점막 손상을 억제하였고(Table I), DA-9601, cetraxate의 ED₅₀는 각각 29.6, 53.3 mg/kg 이었다. DA-9601은 투여용량 모두에서 대조군에 대해 유의성 있는 위병변 억제효과를 나타내었으며, 400 mg/kg 투여군에서는 99%의 높은 억제율을 보였다. Rebamipide는 50 mg/kg의 용량에서는 89%의 억제율을 보였지만 고용량인 100 mg/kg에서는 억제율이 58%로 떨어졌다. Ranitidine은 60% EtOH(150 mM HCl) 위궤양 모델에서는 용량의존적인 항위염 효과가 나타나지 않는다고 보고(Miyata 등, 1991)되고 있으며 본 실험에서도 위병변을 유의적으로 억제시키나 용량의존적이지 않았고, 그 efficacy는 DA-9601보다 낮았다. 본 실험에서 애엽추출물인 DA-9601의 위병변 억제 효과는 대조약물인 cetraxate에 비해 1.8배 높았다.

수침 · 구속 Stress 위궤양에 대한 영향

애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, ranitidine 및 cetraxate의 수침 구속 stress 위궤양에 대한 항궤양 효과는 Table II에 나타나 있다. 21±1°C의 물속에 8시간 동안 담가 수침 · 구속하면 위점막 전면에 원형의 궤양이 발생하였다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, ranitidine은 투여 용량에서 용량의존적인 항궤양 효과가 나타났다. 대조군의 궤양 면적(mm²)은 30.5±2.7 이었다. 애엽추출물인 DA-9601은

25, 50, 100, 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 대해 유의성 있는 항궤양 효과가 나타났다. Cetraxate는 수침 stress위궤양에 대해서는 용량의존적인 항궤양 효과가 나타나지 않았다. 수침 구속 stress 위궤양에서 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide 및 ranitidine의 ED₅₀는 각각 49.5, 17.3, 4.5 mg/kg이었다.

PAF 위궤양에 대한 영향

PAF 투여에 의해 손상된 위점막은 혈액의 응고로 인한 ischemia에 의해 위 전체가 검붉은색으로 나타났다. 대조군의 점막 손상은 60% EtOH (150 mM HCl 함유) 위궤양모델에서와 같은 양상인 띠모양으로 선상의 출혈에 의한 점막 손상이 관찰되었다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, cetraxate는 PAF 유발 위궤양에서 용량의존적인 항궤양 효과가 나타났다(Table III). Rebamipide 및 cetraxate의 ED₅₀는 각각 31.2, 200.5 mg/kg 이었다. 애엽추출물인 DA-9601은 100, 200, 400 mg/kg 투여 용량에서 대조군에 대해 유의성 있는 항궤양 효과가 나타났으나, 400 mg/kg에서 26%의 낮은 항궤양 효과가 나타났다. 한편, ranitidine은 PAF 모델에서는 항궤양 효과가 나타나지 않았다.

Aspirin 위궤양에 대한 영향

궤양지수를 높이기 위하여 궤양 모델에서 가장 많이 사용되는 Shay법과 NSAIDs(non-steroidal antiinflammatory

Table I. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on 60% HCl-EtOH induced gastric lesions in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	9	53.2±8.2	-
	25	6	23.8±3.3*	55
	50	6	15.5±3.9*	71
	100	6	9.3±2.6*	83
	200	6	3.8±1.7*	93
Control	-	6	74.8±7.4	-
	10	4	47.3±4.0*	37
	20	5	15.0±1.3*	80
	50	5	8.0±3.3*	89
	100	6	31.3±2.3*	58
Control	-	6	92.3±8.0	-
	1	6	48.5±8.2*	48
	3	6	48.7±7.4*	47
	10	6	56.0±12.1*	39
	30	6	39.8±8.8*	57
Control	-	5	116.0±20.1	-
	10	5	81.0±19.7	30
	30	6	67.8±19.8	42
	100	6	51.3±12.7*	56
	300	6	30.3±11.1*	74

*Significantly different from each control (p<0.05).

Table II. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on cold water immersion stress-induced gastric ulcers in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	10	30.5±2.7	-
	12.5	7	27.3±6.8	11
	25	7	20.7±2.6*	32
	50	7	15.0±2.0*	51
	100	7	7.6±1.7*	75
Control	-	7	5.3±1.2*	83
	5	7	27.0±1.3	12
	10	7	15.1±1.6*	51
	20	7	13.3±2.8*	56
	50	7	7.1±1.2*	77
Control	-	7	6.1±1.8*	80
	1	7	21.1±1.8*	31
	3	7	17.1±3.2*	44
	10	7	9.0±1.8*	71
	30	7	4.9±1.6*	84
Control	-	7	5.4±1.8*	82
	10	7	17.9±3.0*	41
	20	7	20.3±3.3*	33
	50	7	14.4±1.8*	53
	100	7	17.7±4.4**	42
Control	-	7	18.3±4.7*	40
	200	7	18.3±4.7*	40

*Significantly different from control (p<0.05).

Table III. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on PAF-induced gastric lesions in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	6	155.7±6.0	-
	20	6	144.8±7.2	7
	40	6	140.8±5.6	10
	100	6	133.7±3.8*	14
	200	6	125.7±5.3*	19
	400	6	115.3±3.8*	26
Rebamipide	-	6	144.5±6.0	-
	1	6	126.2±6.0	13
	3	6	118.3±6.4*	18
	10	6	104.8±7.1*	28
	30	6	72.7±5.6*	50
	100	6	44.5±2.9*	69
Ranitidine	-	6	155.5±5.5	-
	1	6	141.2±9.6	9
	3	6	144.2±15.7	7
	10	6	124.0±11.9*	20
	30	6	142.8±16.4	8
	100	6	127.7±11.0*	18
Cetraxate	-	6	153.8±7.6	-
	10	6	144.3±3.7	6
	20	6	138.5±6.4	10
	50	6	126.5±7.2*	18
	100	6	113.5±7.9*	26
	200	6	76.7±11.7*	50

*Significantly different from each control (p<0.05).

drugs)의 대표적 약물이며 위점막을 부식시키는 효과를 갖는 aspirin을 병용하여 사용하였다. Aspirin의 궤양 효과를 높이기 위하여 150 mM HCl을 혼합하였다. 본 시험계에서는 위 점막 부위 뿐 아니라 gastric fundus 부분에 까지 원형의 궤양이 형성되었다. 애엽추출물인 DA-9601과 ranitidine은 본 실험에서 용량의존적인 항궤양 효과가 나타났다(Table IV). 애엽추출물인 DA-9601과 ranitidine의 ED₅₀는 각각 34.5, 6.4 mg/kg 이었다. 애엽추출물인 DA-9601은 100, 200 mg/kg에서 대조군에 대해 유의성 있는 항궤양 효과가 나타났으나 rebamipide와 cetraxate 투여군에서는 용량의존적인 항궤양 효과를 보이지 않았다.

Indomethacin 위궤양에 대한 영향

Indomethacin 유발 위궤양에 대한 각 약물의 방어효과는 Table V와 같다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, ranitidine, cetraxate 투여군에서 용량의존적인 항궤양 효과가 관찰되었다. 애엽추출물인 DA-9601은 25, 50, 100, 200 mg/kg 투여군에서 대조군에 대해 유의성 있는 항궤양 효과가 나타났다. 애엽추출물인 DA-9601의 ED₅₀는 36.1 mg/kg 이고, rebamipide, ranitidine, cetraxate 각각의 ED₅₀는 4.4, 5.

Table IV. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on aspirin induced gastric ulcers in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	6	24.2±7.6	-
	12.5	6	16.7±5.1	31
	25	5	15.2±3.6	37
	50	6	9.3±2.7*	62
	100	6	5.5±2.7*	77
	200	6	5.0±2.3*	81
Rebamipide	-	6	25.2±5.4	-
	5	6	14.5±2.5	43
	10	6	12.5±2.8	50
	20	6	10.0±1.5*	60
	50	6	16.5±3.0*	35
	100	6	13.0±6.4*	48
Ranitidine	-	6	39.2±5.0	-
	1	6	33.0±7.1	16
	3	6	29.0±6.4	26
	10	6	14.5±1.8*	63
	30	6	3.7±1.8*	91
	100	6	1.7±1.0*	96
Cetraxate	-	6	50.8±8.5	-
	10	6	30.3±4.1	40
	20	6	22.5±2.6*	56
	50	6	25.5±6.0*	50
	100	6	33.8±6.5	34
	200	6	42.5±5.1	16

*Significantly different from each control (p<0.05).

0, 44.0 mg/kg 이었다. 애엽추출물인 DA-9601과 cetraxate의 potency를 비교하면 애엽추출물인 DA-9601이 약간 우수했다.

초산 유발 만성 위궤양에 대한 영향

초산 유발 만성 위궤양에 대한 각 약물의 항궤양 효과는 Table VI과 같으며, 애엽추출물인 DA-9601과 cetraxate는 용량의존적인 항궤양 효과를 나타내었다. 애엽추출물인 DA-9601, cetraxate의 ED₅₀는 각각 84.4, 15.5 mg/kg이었으며, 두 약물 모두 모든 투여용량에서 대조군에 비해 유의성 있는 항궤양 효과를 나타내었다. Rebamipide 0.3, 3, 10 mg/kg 투여군에서는 용량의존적인 항궤양 효과가 나타나다가 고용량인 300 mg/kg 투여군에서 항궤양 효과가 떨어지는 것으로 관찰되었다. Ranitidine의 경우는 용량의존적인 항궤양 효과가 나타나지 않았다. 조직학적 검사결과 대조군에서의 궤양변연부에는 재생점막의 확장과 alcian blue 및 PAS에 대해 약한 염색성을 나타내었으며, 궤양표면에 염증세포침윤이 관찰되었다(Fig. 1). 한편 애엽추출물인 DA-9601투여군에서도 재생점막조직의 확장이 관찰되었으나 alcian blue와 PAS에 대해 강한 염색성을 나타내었으며, 궤

양부위에서의 염색세포침윤이 대조군에 비해 약한 것으로 관찰되었다(Fig. 2). 애엽추출물인 DA-9601투여군에서의 점막재생정도와 PAS염색성은 용량상관성을 나타내었으나 cetraxate, rebamipide 및 ranitidine 등 대조약물의 최대 항재양효과를 나타낸 용량군에서의 조직학적 소견과 질적인 차이는 없는 것으로 판단되었다.

위점액량에 대한 영향

무수 ethanol에 의해 분비된 점액량의 측정은 간접적으로 alcian blue의 양으로 측정하였다. Alcian blue는 위점막의 glycoprotein과 결합하여 있다가 30% DSS(dioctyl sodium sulfosuccinate)에 의해 용출된다. 용출된 액을 620 nm에서 흡광도를 측정하여 점액 분비량으로 하였다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, ranitidine, cetraxate는 용량 의존적으로 점액 분비량을 증가시켰다(Table VII). 애엽추출물인 DA-9601은 40, 400 mg/kg에서 대조군에 대해 유의성 있는 점액분비량 증가가 관찰되었다. 4 mg/kg에서는 3%, 40 mg/kg에서는 30%, 400 mg/kg에서는 56%의 점액 분비량이 증가하였다. Ranitidine과 cetraxate는 각각 10, 20 mg/kg 투여에서는 점액 분비량이 대조군 보다 떨어졌다. 각 약물의 최고 용량에서 애엽추출물인 DA-9601의 점액 분비량은 re-

Table V. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on indomethacin-induced gastric ulcers in rats.

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	6	49.2±4.4	-
	12.5	6	32.8±6.3	33
DA-9601	25	6	30.2±4.1	39
	50	6	23.5±2.8*	52
	100	6	14.0±2.2*	72
	200	6	6.0±1.0*	88
Control	-	6	30.2±5.4	-
	5	6	19.0±3.6	37
	10	6	6.5±2.6*	79
	20	6	6.5±2.6*	79
	50	6	3.2±1.3*	89
Rebamipide	100	6	2.3±0.7*	92
	-	6	44.0±3.1	-
	1	6	33.5±2.7	24
	3	6	25.5±4.5*	42
Ranitidine	10	6	16.5±3.3*	63
	30	6	9.5±2.9*	78
	100	6	17.1±1.1*	96
	-	5	43.3±2.7	-
Control	10	6	36.5±4.7*	16
	20	6	32.7±6.2	25
	50	6	20.5±2.3*	53
	100	6	11.2±2.8*	74
	200	6	5.3±2.7*	88

*Significantly different from each control (p<0.05).

bamipide에 비해 1.6배, ranitidine에 비해서는 8.2배, cetraxate에 비해서는 2.5배 높았다.

기초산 분비에 대한 영향

Shay법에 의해 유문부를 절찰하여 위액을 모았다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, ranitidine, cetraxate, atropine을 십이지장으로 투여하여 위액량, pH, acid output, pepsin output을 측정하였다. 각 약물에 대한 기초산 분비에 대한 결과는 Table VIII과 같다. 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, cetraxate 투여군에서는 위액량, pH, acid out-

Table VI. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on 10% acetic acid-induced gastric ulcers in rats.

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Gastric Lesion (Mean±S.E.M., mm ²)	Inhibition (%)
Control	-	9	17.7±1.2	-
	25	8	13.1±1.5*	26
	50	8	11.0±2.8*	38
	100	8	7.1±1.3*	60
DA-9601	200	7	6.1±1.5*	66
	400	9	4.2±0.9*	76
	0.3	7	9.3±1.1*	48
	3	8	8.9±1.6*	50
Rebamipide	30	8	6.5±1.9*	63
	300	8	11.0±2.5*	38
	1	8	9.1±1.5*	49
	3	8	8.8±1.2*	50
Ranitidine	10	8	8.6±1.7*	51
	30	8	8.4±1.9*	53
	10	8	10.0±1.1*	44
	30	8	6.5±1.5*	63
Cetraxate	100	8	6.4±1.6*	64
	300	9	2.3±0.8*	87

*Significantly different from control (p<0.05).

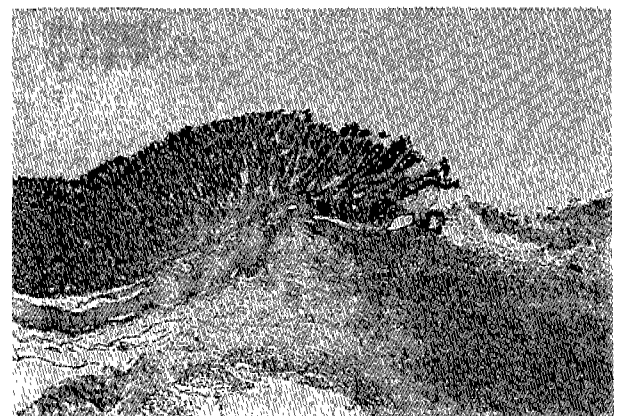


Fig. 1. A photomicrograph of gastric ulcer from a rat of control group. Regenerated mucosa showed villial dilatation and weak alcian blue and PAS-positive. Hemorrhage and infiltration of PMN cells on ulcer lesion were also seen. AB-PAS stain, ×200.

put, pepsin output에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다. 이들 약물은 대조군에 비해 기초산 분비의 약한 감소 경향을 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다. 한편, ranitidine은 10, 30mg/kg 투여군에서 위액량, pH, acid output, pepsin output을 유의성 있게 용량의존적으로 억제하였다. Atropine도 위액량, pH, acid output, pepsin output을 억제하였다. 애엽추출물인 DA-9601은 기초산 분비에는 영향을 주지 않는 것으로 판단되었다.

자극산 분비에 대한 영향

산분비를 촉진하는 histamine(Fig. 3), pentagastrin(Fig. 4), carbachol(Fig. 5) 자극에 대한 애엽추출물인 DA-9601, re-

bamipide, ranitidine 및 cetraxate의 효과를 검토하였다. 자극 물질 투여 15분 후부터 산분비가 증가하여 자극물질 투여 30~60분에 최고 peak가 되고 60분 후부터 산분비가 감소하기 시작하였다. 자극물질인 histamine, pentagastrin, carbachol에 대해 애엽추출물인 DA-9601, rebamipide, cetraxate는 대조군과 비슷한 효과를 나타내어 산분비가 억제되지 않는 것으로 관찰되었다. Ranitidine은 histamine, pentagastrin, carbachol 자극에 대해 산분비를 유의성 있게 억제하는 것으로 나타났다. 애엽추출물인 DA-9601은 rebamipide나 cetraxate와 같이 산분비에는 영향을 나타내지 않았다.

고 찰

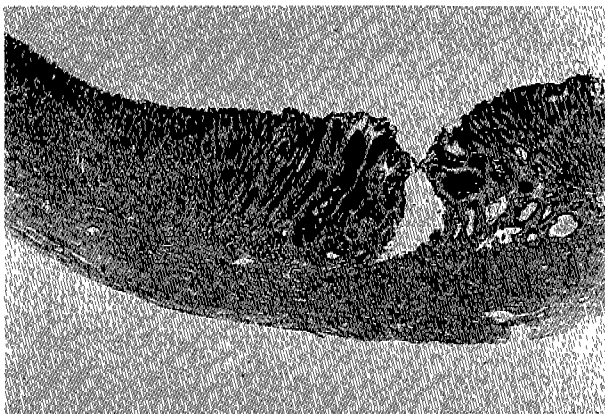


Fig. 2. A photomicrograph of gastric ulcer from a rat of DA-9601 (100 mg/kg/day)-treated group. Ulcer lesion was almost covered with regenerated mucosa. Cells lining restored gastric glands exhibited more alcian blue and PAS-positive cells indicating more advanced differentiation toward mature surface epithelial cells. AB-PAS stain, $\times 200$.

Table VII. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on absolute ethanol-induced mucus secretion in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of animals	Alcian blue (μg , Mean \pm S.E.M.)	Increase (%)
Control	-	9	263.30 \pm 22.86	-
DA-9601	4	6	270.45 \pm 24.02	3
	40	6	341.00 \pm 25.42*	30
	400	6	409.47 \pm 35.65*	56
Rebamipide	10	6	286.93 \pm 26.19	9
	100	6	356.78 \pm 14.43*	36
Ranitidine	10	6	188.32 \pm 21.85*	-29
	100	6	281.30 \pm 23.82	7
Cetraxate	20	6	247.60 \pm 18.99	-6
	200	6	321.67 \pm 21.95	22

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

Table VIII. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine, cetraxate and atropine on basal acid secretion in rats

Drug	Dose (mg/kg, i.d.)	No. of animals	Volume (ml)	pH	Acid output (mEq/5 hr)	Pepsin output (μg /5 hr)
Control	-	9	8.56 \pm 0.92	1.10 \pm 0.03	12.62 \pm .76	4.64 \pm 0.49
DA-9601	40	5	6.63 \pm 0.78	1.09 \pm 0.05	9.90 \pm 1.57	5.34 \pm 0.36
	120	6	7.18 \pm 0.85	1.12 \pm 0.04	9.97 \pm 1.71	3.38 \pm 0.48
	400	6	6.85 \pm 1.19	1.11 \pm 0.06	10.84 \pm 2.94	3.43 \pm 0.41
Rebamipide	10	6	6.25 \pm 0.69	1.13 \pm 0.05	8.59 \pm 1.47	3.24 \pm 0.41
	30	6	6.43 \pm 1.05	1.13 \pm 0.05	9.08 \pm 2.05	3.39 \pm 0.71
	100	6	6.58 \pm 1.41	1.08 \pm 0.06	10.38 \pm 2.71	3.45 \pm 0.69
Ranitidine	3	6	7.23 \pm 1.07	1.12 \pm 0.06	9.24 \pm 1.98	3.81 \pm 0.64
	10	6	5.55 \pm 0.65*	1.22 \pm 0.05*	9.49 \pm 1.02*	3.00 \pm 0.37*
	30	6	4.98 \pm 0.60*	1.67 \pm 0.21*	3.66 \pm 1.02*	2.77 \pm 0.35*
Cetraxate	30	6	7.48 \pm 0.63	1.06 \pm 0.04	11.77 \pm 1.45	3.91 \pm 0.37
	100	5	6.28 \pm 1.78	1.17 \pm 0.08	9.37 \pm 3.59	3.46 \pm 0.89
	300	6	6.28 \pm 0.95	1.15 \pm 0.06	8.94 \pm 2.12	3.01 \pm 0.63
Atropine	10	6	2.10 \pm 0.37*	1.58 \pm 0.19*	1.85 \pm 0.60*	1.27 \pm 0.35*

Values are Mean \pm S.E.M. *Significantly different from control ($p < 0.05$).

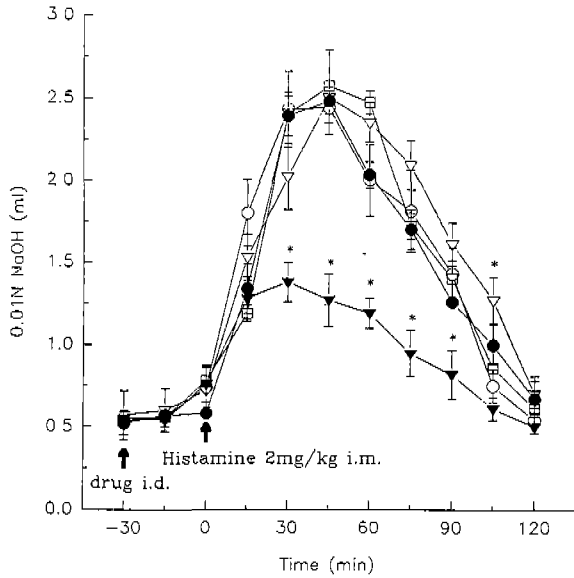


Fig. 3. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on histamine-stimulated acid secretion in rats. ○: Control, ●: DA-9601 (400 mg/kg, i.d.) ▽: rebamipide (100 mg/kg, i.d.), ▼: ranitidine (100 mg/kg, i.d.) and □: cetraxate (200 mg/kg, i.d.). Vertical bars indicate means ± S.E.M. for 5 rats per group.
*Significantly different from control ($p < 0.05$).

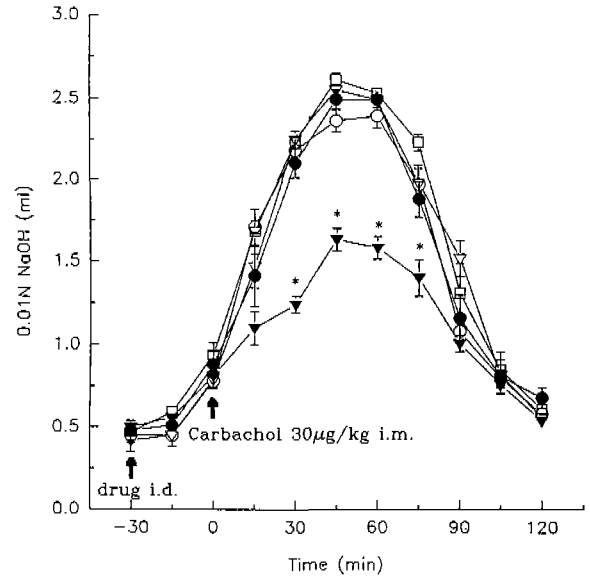


Fig. 5. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on carbachol-stimulated acid secretion in rats. ○: Control, ●: DA-9601 (400 mg/kg, i.d.) ▽: rebamipide (100 mg/kg, i.d.), ▼: ranitidine (100 mg/kg, i.d.) and □: cetraxate (200 mg/kg, i.d.). Vertical bars indicate means ± S.E.M. for 5 rats per group.

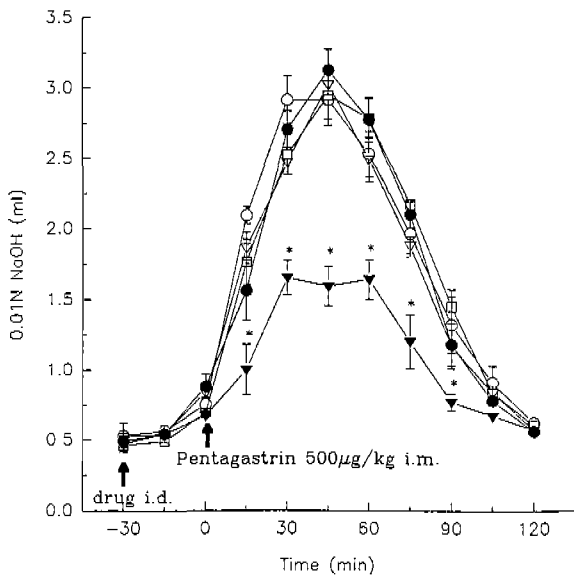


Fig. 4. Effects of DA-9601, rebamipide, ranitidine and cetraxate on histamine-stimulated acid secretion in rats. ○: Control, ●: DA-9601 (400 mg/kg, i.d.) ▽: rebamipide (100 mg/kg, i.d.), ▼: ranitidine (100 mg/kg, i.d.) and □: cetraxate (200 mg/kg, i.d.). Vertical bars indicate means ± S.E.M. for 5 rats per group.
*Significantly different from control ($p < 0.05$).

소화성 궤양의 원인은 Shay와 Sun의 'balance theory'로 요약할 수 있는데 공격인자와 방어인자의 균형이 깨짐으로

써 발생하는 것이다(Shay와 Sun, 1963). 대부분의 위궤양 환자는 십이지장 궤양 환자와는 달리 위산분비가 정상인과 비교하여 높지 않으며 저산증이나 무산증을 동반하는 경우가 많다(Chapman, 1978). 위궤양 환자는 공격인자의 증가보다는 점막 방어인자의 저하가 원인인 것으로 밝혀지고 있다(Korman 등, 1981). 대표적인 위산분비 억제제로 사용되는 H_2 -antagonist는 임상에서 우수한 항궤양 효과가 있으나(Feldman과 Burton, 1990), 투여 종료 후에 재발율이 높은 점이 문제로 지적되고 있다(Berardi 등, 1987; Bardham, 1984). 이런 원인은 공격인자 억제제에 의해 치유된 재생점막은 점막하의 조직이 정상 조직에 비해 매우 약한 구조로 형성되어 약물 투여 중지후에 다시 공격받기 쉽기 때문이라고 알려져 있다(Freston, 1989). 방어인자 증강제의 경우는 공격인자 억제제의 이러한 단점을 보완하여 재생점막이 정상의 점막과 유사한 형태를 만들어 준다고 알려져 있다(Shiraki 등, 1988).

본 시험 결과에 의하면 애엽추출물인 DA-9601은 HCl-EtOH, 수침·구속 stress, PAF, aspirin, indomethacin 등에 의한 급성 위염 및 위궤양과 acetic acid 유발 만성 위궤양에 대해서 항궤양 효과를 나타내었다. HCl-EtOH, 수침·구속 stress, aspirin, indomethacin 위궤양에서는 유의성있는 억제 효과를 나타내었으며, 만성 모델인 acetic acid 궤양에서도 애엽 추출물은 유의성있는 점막재생 촉진효과를 나타내었다. Acetic acid에 의한 궤양모델은 만성적인 경과를 나타내며, 육안적 궤양병변 소실후 120~140일에 높은 빈도로 궤

양재발이 관찰되어 임상에서의 위궤양과 유사성이 매우 높은 것으로 알려져 있다(Shiraki 등, 1988). Tamawski 등 (1990)은 acetic acid에 의한 실험적 궤양이 치유후에도 조직학적으로 비정상적인 구조를 나타내고 있으며, 비정상적 조직구조가 높은 재발율과 상관성이 있을 것이라고 추정하였다. 정상점막조직에서 분비되는 점액의 주성분은 중성의 mucopolysaccharide(MPS)로서 PAS 염색에 대해 양성을 나타내며, 위염 및 위궤양 치유과정중 신생재생점막에서 분비되는 점액은 산성의 MPS로서 alcian blue 염색성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 그러므로 재생점막조직에서의 alcian blue 및 PAS 염색성은 재생점막의 성숙도의 지표로 활용될 수 있다. 본 시험결과 에엽추출물인 DA-9601 투여군에서의 재생점막은 대조군에 비해 alcian blue 및 PAS에 대해 높은 염색성을 나타내어 궤양치유활성이 증가된 것으로 관찰되었다. 에엽추출물인 DA-9601이 acetic acid 유발 궤양에 대해 모든 용량군에서 대조군에 비해 유의한 항궤양작용과 높은 점막재생활성을 나타낸 것은 임상에서의 에엽추출물인 DA-9601의 유용성을 시사하는 결과로 사료된다. 한편, PAF 위궤양에 대해서 에엽추출물인 DA-9601은 용량의존적으로 궤양 효과를 보였지만, potency는 낮게 나타났다. PAF 모델은 위 혈관내 혈소판의 응집을 촉진하여 혈소판의 감소를 초래하고 혈액응고로 인한 허혈상태를 통하여 위점막 전체에 염증이 유발되고, superoxide 생성을 촉진하여 지질과산화반응이 유도되는 것으로 보고되고 있다(Aratani 등, 1988). HCl-EtOH 위궤양은 EtOH의 위점막에 대한 직접 자극과 점막하 근육층에 부종을 유발시켜 일시적 허혈상태를 발생시켜(Oates와 Hakkinen, 1988) 세포의 괴사를 유발하고(Robert 등, 1979) HCl이 위운동을 항진하여 급성 위염을 유발시키는 것으로 알려져 있으며(Kurebatashi 등, 1988), 수침·구속 stress 위궤양은 미주신경의 흥분에 의해 위산분비의 항진, 위운동 항진, 혈류장애 등의 원인에 의해 궤양이 형성된다고 한다(Suwa 등, 1984). Aspirin 위궤양은 aspirin의 위점막 부식작용과 prostaglandin 생합성 억제작용(Kauffman, 1989) 및 Shay 결찰에 의한 위액의 저류와 위산분비의 항진에 의해 궤양이 유발된다(Shay 등, 1945). Indomethacin 궤양은 prostaglandin의 생합성을 억제하는 기전으로 궤양을 유발한다(Whittle, 1977). 내인성 prostaglandin이 궤양의 치료에 중요하다고 알려져 있으며(Guslandi, 1985), 또한 외인성 prostaglandin이 위점막에 trophic 효과를 나타낸다고 알려져 있다(Halter, 1984; Reinhart 등, 1983). Aspirin(Okabe 등, 1976)과 indomethacin(Konturek 등, 1987) 등의 NSAIDs계 약물들이 acetic acid 궤양의 치료를 지연한다고 보고하고 있어(岡部와 田中, 1987) acetic acid 유발 만성 궤양 모델에서도 치유 기전에 prostaglandin이 관여하는 것으로 예측할수 있다.

시험결과 에엽추출물인 DA-9601은 용량의존적으로 점

액 분비량을 촉진하였으며, 대조약물인 rebamipide나 cetraxate와 비교하여도 우수한 효과를 나타내었다. 위점액의 구성은 효소, 세포산물, 혈청단백, mucin 등의 혼합물로 알려져 있는데(Hollander, 1954) 이러한 점액이 위점막을 보호하는데 중요한 인자로 인식되고 있다. 유문 결찰에 의한 기초산 분비에 대한 영향에서는 rebamipide나 cetraxate와 마찬가지로 에엽추출물인 DA-9601은 산분비에 영향을 주지 않았다. 대조약물로 사용한 ranitidine과 atropine은 용량의존적으로 기초산 분비를 억제하였다. 자극산 분비에 대한 효과에서도 에엽추출물인 DA-9601은 산분비를 억제하거나 촉진하지 않았다. 벽세포에서 위산을 분비하는데 체내에서 산분비에 관여하는 화학전달물질인 acetylcholine, gastrin, histamine receptor가 존재하여 이 물질들이 벽세포를 자극하여 위산을 생성한다고 알려져 있다(Inokuchi와 Kawai, 1991). 현재 시판되고 있는 궤양 치료제의 대부분은 H₂-receptor antagonist이거나 최근에 개발된 proton pump inhibitor(PPI) 제제들이다. H₂-receptor antagonist는 산분비를 억제하여 궤양의 생성을 막거나 치유하는 약물군이나(Mills와 Wood, 1989), 단점으로는 무산증 및 rebound hypersecretion을 유발하고(Fullarton 등, 1989), 위점막 방어기전을 약화시켜 재발시키는 것이라고 알려져 있다(Konturek 등, 1983).

결과에 의하면 에엽추출물인 DA-9601의 항궤양 작용기전은 rebamipide, cetraxate와 유사한 점막보호작용을 갖고, ranitidine의 산분비 억제 기전과는 다른 것으로 사료되며 에엽추출물인 DA-9601의 항궤양 효과는 rebamipide와 동등한 정도의 효과가 있으며, cetraxate 보다는 우수한 효과가 있는 것으로 판단되었다.

감사의 말씀

이 연구는 1995년도 보건복지부 보건의료기술연구사업의 지원에 의해 이루어 졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

Anson, M. L. (1938). The estimation of pepsin, trypsin, pepsin and cathepsin with hemoglobin. *J. Gen. Physiol.* **22**, 79-89.

Aratani, H., Nishida, Y., Terasawa, M. and Maruyama, Y. (1988). Effect of etizolam (Depos) on production of superoxide anion by platelet activating factor and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine-stimulated guinea pig polymorphonuclea leucocyte. *Japan. J. Pharmacol.* **47**, 200-203.

Bardham, K. D. (1984). Refractory duodenal ulcer. *Gut* **25**, 711-717.

Berardi, R. R., Savitsky, M. E. and Nostrent, T. T. (1987).

- Maintenance therapy for prevention of recurrent peptic ulcers. *Drug Intell. Clin. Pharm.* **21**, 493-501.
- Champman, M. L. (1978). Peptic ulcer. A medical perspective. *Med. Clin. North Am.* **62**, 39-48.
- Corne, S. J., Morrissey, S. M. and Woods, R. J. (1974). A method for the quantitative estimation of gastric barrier mucus. *J. Physiol.* **242**, 116-117.
- Feldman, M. and Burton, M. E. (1990). Histamine₂-receptor antagonists(part one). *N. Engl. J. Med.* **323**, 1672-1680.
- Feldman, M. and Burton, M. E. (1990). Histamine₂-receptor antagonists(part two). *N. Engl. J. Med.* **323**, 1749-1755.
- Fullarton, G. M., Mclachlan, G., Macdonald, A., Crean, G. P. and Mccoll, K. E. L. (1989). Rebound nocturnal hypersecretion after four weeks treatment with H₂-receptor antagonist. *Gut* **30**, 449-454.
- Freston, J. W. (1989). Mechanisms of relapse in peptic ulcer disease. *J. Clin. Gastroenterol.* **11**(suppl. 1), S34-38.
- Ghosh, M. N. and Schild, M. O. (1958). Continuous recording of acid gastric secretion in the rat. *Br. J. Pharmacol.* **13**, 54-61.
- Guslandi, M. (1985). Ulcer-healing drugs and endogeneous prostaglandins. *Int. J. Clin. Pharm. Ther. Toxicol.* **23**, 398-402.
- Guth, P. H., Aures, D. and Panlsen, G. (1979). Topical aspirin plus HCl gastric lesions in the rat. *Gastroenterology* **76**, 88-93.
- Haas, E. (1981). Alcian blue or alcian blue-PAS combined stain. In *50 diagnostic special stains for surgical pathology* (J. B. Lippincott Co.) pp. 5-8.
- Halter, F. (1954). Both topical and systemic treatments with 16,16-dimethyl prostaglandin E₂ are tropic to rat gastric mucosa. *Scand. J. Gastroenterol.* **19**(suppl. 101), 47-53.
- Hollander, F. R. (1954). The two-component mucous barrier. *Arch. Intern. Med.* **93**, 107-113.
- Inokuchi, H. and Kawai, K. (1991). Morphological change of parietal cells after long-term treatment of omeprazole. *醫學のあゆみ* **159**, 828-831.
- Ishizuka, Y., Kamisaki, T., Okamoto, N., Matsuda, M., Shimazaki, I., Kimura, I., Kamiya, A., Kataoka, M., Kawashima, M., Terashima, K. and Sato, M. (1994). Effect of 1,6-dihydro-2-[2-(2-methyl propoxy)anilino]-6-oxo-5-pyrimidine carboxylic acid on gastric mucosal defensive factors and gastric secretion in rats. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **44**, 620-626.
- Kauffman, G. (1989). Aspirin-induced gastric mucosal injury : Lessons learned from animal models. *Gastroenterology* **96**, 606-614.
- Kitagawa, H., Takeda, F. and Kohei, H. (1986). A simple method for estimation of gastric mucus and effects of antiulcerogenic agents on the decrease in mucus during water-immersion stress in rats. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **36**, 1240-1244.
- Konturek, S. J., Borozowsky, T. and Radecki, T. (1983). Protective action of omeprazole, a benzimidazole derivative on gastric mucosal damage by aspirin and ethanol in rats. *Digestion* **27**, 159-164.
- Konturek, S. J., Stachura, J., Radecki, T., Drozdowicz, D. and Brzozowski, T. (1987). Cytoprotective and ulcer healing properties of prostaglandin E₂, colloidal bismuth and sucralfate in rats. *Digestion* **38**, 103-113.
- Korman, M. G., Shaw, R. G., Hansky, J., Schmidt, G. T. and Stern, A. I. (1981). Influence of smoking on healing rate of duodenal ulcer in response to cimetidine or high-dose antacid. *Gastroenterology* **81**, 1451-1453.
- Kurebatashi, Y., Ikeda, T. and Osada, Y. (1988). Cytoprotective action of cetraxate against HCl · Ethanol-induced gastric lesion in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **46**, 17-25.
- Lee, E. B. (1995). The effect of Artemisia Herba on gastric lesion and ulcers in rats with isolation of eupatilin, in Unesco Regional Seminar on the Chemistry, Pharmacology and clinical use of flavonoid compounds. Oct. 11-15, Chungnam National Univ., Taejon, Korea., 13-20.
- Mills, J. G. and Wood, J. R. (1989). The pharmacology of H₂-receptor antagonists. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* **11**(suppl. 1), 87-95.
- Miyata, K., Kamato, T., Nishida, A. and Honda, K. (1991). Studies on the mechanism for the gastric mucosal protection by famotidine in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **55**, 211-222.
- Mizui, T. and Doteuchi, M. (1983). Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **33**, 939-945.
- Oates, P. J. and Hakkinen, J. P. (1988). Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterology* **94**, 10-21.
- Okabe, S. and Pfeiffer, C. J. (1972). Chronicity of acetic acid in the rat stomach. *Dig. Dis.* **17**, 619-628.
- Okabe, S., Takeuchi, K., Honda, K. and Takagi, K. (1976). Effects of acetylsalicylic acid (ASA), ASA plus L-glutamine and L-glutamine on healing of gastric ulcer in the rat. *Digestion* **14**, 85-88.
- Okabe, S., Takeuchi, K., Nakamura, K. and Takagi, K. (1974). Pathogenesis of gastric lesions induced by aspirin in the pylorus-ligated rat. *Japan. J. Pharmacol.* **24**, 363-371.
- Reinhart, W. H., Muller, O. and Halter, F. (1983). Influence of long-term 16, 16-dimethyl prostaglandin E₂ treatment on the rat gastrointestinal mucosa. *Gastroenterology* **85**, 1003-1010
- Robert, A., Nezamis, J. E., Lancaster, C. and Hanchar, A. J. (1979). Cytoprotection by prostaglandins in rats; Prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, hypertonic NaCl and thermal injury. *Gastroenterology* **77**, 433-443.
- Rosam, A.-C., Wallace, J. L. and Whittle, B. J. R. (1986). Potent ulcerogenic actions of platelet-activating factor on the stomach. *Nature* **319**, 54-56.
- Shay, H., Komarov, S. A., Fels, S. S. and Meranze, D. (1945). A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology* **5**, 43-61.
- Shay, H. and Sun, D. C. H. (1963). Etiology and pathology of gastric and duodenal ulcer. In *Gastroenterology* (H. L. Buchs & W. B. Saunders Co.) pp. 420-465, Philadelphia and London.

- Shiraki, M., Yamasaki, K., Ishiyama, H., Kanbe, T., Yabuuchi, Y., Asada, S., Hirata, I. and Oshiba, S. (1988). Healing promoting effect of proamipide, a novel drug that increases gastric defense mechanisms, on acetic acid-induced gastric ulcers in the rat. *Folia pharmacol. japon.* **92**, 389-395.
- Steel, G., Wallace, J. L. and Whittle, B. J. R. (1987). Failure of prostaglandin E2 and 16, 16-dimethyl analogue to prevent the gastric mucosal damage induced by PAF. *Br. J. Pharmacol.* **90**, 365-371.
- Suwa, T., Fukushima, K. and Kyogoku, K. (1984). Effect of anti-ulcer agent, 2'-carboxy methoxy-4,4'-bis(3-methyl-2-butenyloxy) chalcone(SU-88), on the biosynthesis of gastric sulfated mucosubstances in restrained and water-immersed rats. *Japan. J. Pharmacol.* **34**, 89-94.
- Takagi, K. and Okabe, S. (1968). The effect of drugs on the production and recovery process of the stress ulcer. *Japan. J. Pharmacol.* **18**, 9-18.
- Tarnawski, A., Krause, W. J. and Stachura, J. (1990). "Healed" experimental gastric ulcers remain histologically and ultrastructurally abnormal. *J. Clin. Gastroenterol.* **12**(Suppl. 1), S139-S147.
- Urushidani, T., Okabe, S., Takeuchi, K. and Takagi, K. (1977). Effects of various amino acids on indomethacin-induced gastric ulcers in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **27**, 316-319.
- Whittle, B. J. R. (1977) Mechanisms underlying gastric mucosal damage induced by indomethacin and bile-salts, and the actions of prostaglandins. *Br. J. Pharmacol.* **60**, 455-460.
- Whittle, B. J. R., Wallace, J. L., Steel, G., Lagente, V. and Vargaftig, B. (1987). Evidence for platelet-activating factor as a mediator of endotoxin-induced gastrointestinal damage in the rat. : Effects of three platelet-activating factor antagonists. *Gastroenterology* **93**, 765-773.
- Yamasaki, K., Ishiyama, H., Imaizumi, T., Kanbe, T. and Yabuuchi, Y. (1989). Effect of OPC- 12759, a novel antiulcer agent, on chronic and acute experimental gastric ulcer, and gastric secretion in rats. *Japan. J. Pharmacol.* **49**, 441-448.
- 岡部 進, 田中 宏典 (1987). 實驗潰瘍, 東京, 醫學圖書出版, p. 7.
- 陸昌洙 (1989). 原色韓國藥用植物圖鑑, 서울, 아카데미서적, p. 526.
- 陳存仁 (1984). 漢方醫學大辭典, 서울, 동도문화사, p. 332.
- 許 俊 (1984). 東醫寶鑑, 국역증보판, 서울, 남산당, p. 1197.