

## 인체 및 토끼 위선세포에서 인삼사포닌의 위산분비 매개 신호전달체계에 미치는 영향

김혜영 · 김신일<sup>1</sup> · 김경환

연세대학교 의과대학 약리학교실, <sup>1</sup>한국인삼연초연구원 인삼효능부  
(1997년 12월 5일 접수)

### Effects of Ginsenosides on Acid Secretion in Gastric Cells Isolated from Human and Rabbit Gastric Mucosa

Hyeyoung Kim, Shin Il Kim<sup>1</sup> and Kyung Hwan Kim

*Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, Korea*

*<sup>1</sup>Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea*

(Received December 5, 1997)

**Abstract** : Antiulcer effects of ginseng saponin, acidic polysaccharide and methanol extract of Panax ginseng in the patients and experimental animals were reported. Postulated action mechanisms of ginseng were histamine- $H_2$  receptor blocking and increasing gastric blood flow. In the present study, the effect of ginsenosides, the biologically active glycosides of ginseng, on gastric acid secretion was examined using gastric cells isolated from human and rabbit gastric mucosa. Ginseng saponin, ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub> and Rh<sub>2</sub> were tested in unstimulated as well as stimulated gastric cells. Histamine ( $10^{-4}$  M) and 3-isobutyl-1-methylxanthine ( $10^{-4}$  M) were used as secretagogues. To investigate the mechanism of ginsenosides on acid secretion, the levels of cAMP and cGMP were monitored in gastric cells. As a result, high concentration (1mg/ml) of ginseng saponin showed 73~75% of stimulated acid secretion in control gastric cells. However, ginseng saponin had no effect on unstimulated acid secretion and the levels of cGMP and cAMP in gastric cells. Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> and Rh<sub>2</sub> significantly inhibited stimulated acid secretion. Gastric cGMP levels were increased by all ginsenosides tested while cAMP levels were increased by all ginsenosides in unstimulated state of gastric cells, but increased by ginsenosides ginsenoside Rg<sub>1</sub> and Rh<sub>2</sub> in stimulated state of gastric cells. The results suggest that inhibition of ginseng saponin on gastric acid secretion represents a complex effect of individual ginsenosides, which produce a range of effect on acid secretion. The inhibition site of ginseng saponin on stimulated acid secretion is postulated as post cAMP levels in acid secretory pathway such as protein phosphorylation or proton pump. Nitric oxide may not be involved in the inhibitory effect of ginseng saponin on stimulated acid secretion.

**Key words** : Ginsenosides, acid secretion, gastric cells.

## 서 론

위장질환은 전세계적으로 흔한 질병으로 위산분비의 촉진 등에 기인한 소화성 궤양은 전세계 인구의 10%에 나타나는 가장 흔한 건강 문제이다. 위장 질환

의 원인은 흡연, 알콜섭취, 음식, 약물, 유전적 요인, 전신질환, 정신심리학적 스트레스 등 여러가지가 대두되며 여러 복합요인에 의하여 발생된다. 소화성 궤양을 포함한 위장질환은 공격인자인 산과 pepsin의 증가 혹은 방어인자인 점막의 방어기전 상실 등이 병

리학적 원인으로 보고되고 있으며, 산을 중화하거나 산분비를 억제하거나 점막보호제 사용등을 치료에 이용하고 있다.

위산분비의 시작은 위벽세포의 표면에 있는 특이 수용체에 의해 매개된다. 위산분비 촉진의 주 경로는 histamine의  $H_2$ -histamine receptor에의 결합에 의해 이루어지며, G-protein 매개 adenylate cyclase 활성을 증가시켜 이루어진다. Adenylate cyclase의 활성화는 adenosine 3',5'-cyclic monophosphate(cAMP)를 축적시키고 cAMP-의존성 protein kinase(PKA)를 촉진시킨다. 밝혀지지 않은 기전을 통하여 PKA는  $K^+$ ,  $H^+$ -ATPase에 대한 protons의 pumping을 증가시킴으로써 위산분비를 촉진시킨다.<sup>1)</sup> 그러므로 위산분비 매개 신호전달체계의 연구에서는 histamine을 위산분비 촉진물질로 사용한 후 신호전달물질인 세포내 cAMP 측정이 유용하게 이용되고 있다.

cAMP와 함께 위점막 기능의 2차전령으로 보고되고 있는 cGMP는 GTP로부터 guanylate cyclase에 의하여 생성되며,<sup>2)</sup> cGMP는 cGMP 의존성 protein kinase를 활성화하거나<sup>3)</sup> 이온통로에 작용하여<sup>4)</sup> 기능을 나타낸다. 준필수 아미노산인 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase에 의하여 합성되는 nitric oxide(NO)는 guanylate cyclase의 heme moiety에 결합하여 이 효소를 활성화시킨다. 최근에는  $Ca^{2+}$ 와 NADPH 의존성 NO synthase(NOS)가 흰쥐의 위점막에서 발견되었으며<sup>5)</sup>  $N^G$ -monomethyl-L-arginine(L-NMMA)에 의하여 이 효소의 활성이 억제 될 경우 위점막 혈류의 감소<sup>6)</sup>와 capsaicin 또는 indomethacin으로 전처리한 쥐에서 위점막 손상을 유발하였다.<sup>7)</sup> 이와 같은 보고는 NO가 다른 보호작용을 갖는 mediator인  $PGE_2$  등과 관계하여,<sup>8)</sup> 위점막 통합성에 관여하며 위점막 혈류의 조절은 NO의 위점막에 대한 보호작용 기전에 중요한 역할을 할 것임을 시사하고 있다. 이와 상반되는 보고로 vagal excitation 또는 위산분비촉진 물질에 반응하여 방어 인자로 증가하는  $HCO_3^-$ 의 분비는 NOS inhibitor인  $N^G$ -nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME)에 의하여 촉진됨<sup>9)</sup>으로써 NO가 위산분비의 조절에 관여할 것임이 제시되었다. 본 연구팀의 분리 위선세포를 이용한 연구에서도 NO 공여물인 sodium nitroprusside가 dibutyryl cAMP로 촉진된 위산분비

를 억제하였다.<sup>10)</sup>

인삼의 소화기계에 대한 연구는 다른장기에 대한 효능연구에 비하여 적은편이다. 위장질환에 대한 인삼의 연구로는 1966년 위궤양환자에게 인삼엑기스를 투여한 결과 치유효과가 나타났으며, 인삼사포닌의 백서를 이용한 스트레스 궤양, 초산궤양, 국소동결 궤양에 대한 연구결과 인삼사포닌은 세 종류의 궤양발생을 모두 억제하였다.<sup>11)</sup> 인삼 methanol extract를 HCl/ethanol 유도성 궤양에 적용한 결과, 인삼은 위점막 세포막 보호효과를 나타냈으며,<sup>12)</sup> 인삼꽃 사포닌과 ginsenoside Re의 항위궤양 효과도 관찰되었다.<sup>13)</sup> 인삼 extract의 위점막 혈류 개선작용에 의한 위궤양치료효과<sup>14)</sup>는 인삼의 위점막 세포에서의 NO의 생성조절 가능성을 시사하고 있으며, 인삼열매 사포닌의 histamine  $H_2$  receptor blocker 유사작용<sup>15)</sup>과 인삼 polysaccharide의 HCl/ethanol 유도성 궤양에 대한 위점막 보호효과<sup>16,17)</sup>등이 인삼의 위장질환 치료 및 위점막 보호제로서의 개발 가능성을 나타내주고 있다. Suzuki등<sup>18)</sup>은 인삼의 50% ethanol extract가 유분결찰 쥐에서 위산분비를 억제하며, 2-deoxy-D-glucose와 baclofen [ $\beta$ -(p-chlorophenyl)- $\gamma$ -aminobutyric acid]등 중추신경계를 통한 위산분비 촉진물질에 의한 위산분비를 억제함을 보고함으로써 인삼 extract가 vagal stimulation 유도성 위산분비보다는 중추신경계를 통한 위산분비 억제 가능성을 보고하였다.

인삼의 NO 유리에 대한 연구결과로는 활성산소종(oxygen free radical)으로 수컷 토끼의 폐혈관 수축을 유도한 후 인삼사포닌을 처리한 결과, 인삼 총사포닌뿐 아니라 ginsenoside Rg<sub>1</sub>이 혈관내피를 보호하여 폐혈관 이완현상을 유지시켰으며, 폐동맥과 대동맥에서 분리한 내피세포에서 NO 유리를 촉진시켰다.<sup>19)</sup> *In vivo*와 *in vitro* 실험에 의한 흰쥐 신장조직(사구체, 신피질, 신수질)내 NO 유리를 cGMP 함량으로 측정 한 결과, 인삼 사포닌의 조직 특이적 촉진작용(tissue-specific stimulation)이 확인되었다.<sup>20,21)</sup> 그러므로 인삼의 NO 유리작용이 위선세포에서 증명된다면 인삼의 위점막 보호작용 및 위산분비 조절과도 연관시킬 수 있으리라 생각된다.

본 연구에서는 인삼사포닌의 항위궤양효과 및 작용기전을 규명하고자 토끼 및 인체 위점막으로부터 위선세포를 분리한 후, 인삼사포닌의 기초 및 촉진

상태의 위산분비에 미치는 영향을 관찰하였다. 위산 분비 평가지표로는 약염기인 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine의 위선세포내의 축적비율과 위산분비 매개 신호전달 물질인 cAMP 수준을 측정하고, NO 유리에 대한 평가지표로는 위선세포내 cGMP 함량을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 인삼사포닌 시료

인삼 사포닌 및 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub>는 한국인삼연초연구원에서 공급받아 사용하였다.

### 2. 토끼로부터 위 관류

수컷 New Zealand 흰 토끼(1.5~2.5 kg)에 secodal(30 mg/kg)을 i.v.로 주사하여 마취하였다. 복부를 절개하여 복부 동맥에 혈류와 역행하는 방향으로 도관을 삽입하여 도관을 통하여 5 ml의 heparin(250 U/ml)을 주사하였다. 1분 후 도관을 통하여 출혈이 시작하면 소장로 유입되는 장간막 혈관을 결찰하였다. 곧이어 가슴을 절개하고 흉부 대동맥을 결찰한 후 37°C의 산소포화 PBS(NaCl 149.6 mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.64 mM, pH 7.3)을 복부의 동맥을 통하여 관류하고 문맥을 통하여 관류액이 나오도록 하였다. 이 관류 방법으로 대부분의 PBS용액은 위 혈관을 통과하였으며, PBS관류로 위를 통한 혈액이 완전히 제거되기까지 대략 500 ml의 PBS가 필요하였다. 관류 후 위를 적출하고 소만을 따라 절개한 후 위 내용물을 제거하였다.

### 3. 토끼 위점막으로부터 위선세포 분리

위의 전정부와 유문부를 제거하고 위체부만을 PBS로 여러 번 세척한 후 여과지로 물기를 제거하였다. 위점막을 근층으로부터 분리한 후 잘게 분쇄하고 37°C의 산소포화 PBS로 두 번 세척하였다. 50 ml의 collagenase 효소용액(NaCl 130 mM, NaHCO<sub>3</sub> 12 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 mM, MgSO<sub>4</sub> 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, phenol red 10 mg/L, pH 7.4. 사용직전에 type I collagenase 250 U/ml, rabbit albumin 1 mg/ml, glucose 2 mg/ml를 첨가하였다)이 담긴 200 ml flask에 위점막 분쇄물을 옮기고 100% O<sub>2</sub>를 주입한 후 봉하여 37°C 수조에서 가볍게 흔들면서 반응시켰다. 위를 적출하여 반응 시작할 때까지의 전 과정을 5분 이내에 행하였다. 90분 후, 위선세포가 분리되면 반응을 정지시키고 나머지

실험은 실온에서 행하였다. 위선세포의 분산액을 nylon cloth(200  $\mu\text{m}$ )로 여과한 다음 15 ml 시험관에 옮겼다. 시험관에 위선세포가 가라앉은 다음 상층액을 버렸으며, 이후 incubation medium을 사용하여 3회 세척하여 위선세포를 collagenase 없는 상태로 유지시켰다. 실험에 사용하는 incubation medium은 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 mM, NaHCO<sub>3</sub> 20 mM, NaCl 70 mM, KCl 5 mM, glucose 11 mM, Hepes 50 mM(pH 7.4), CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, BSA 1 mg/ml로 구성하였다<sup>22)</sup>. 분리한 위선세포는 trypan blue dye exclusion 방법으로 세포 생존율 90% 이상과 위상차 현미경으로 정상적인 세포형태를 확인한 후 실험에 사용하였다.

### 4. 인체 위점막으로부터 위선세포 분리

신선하게 입수된 위조직(위절제 환자에서 절제한 위조직중 육안으로 이상이 발견되지 않은 부위)의 혈류제거를 위해 3회 37°C의 산소포화 PBS로 세척하였다. 위점막을 근층으로부터 분리한 후 잘게 분쇄하고 37°C의 산소포화 PBS로 두 번 세척하였다. 50 ml의 collagenase 효소용액(NaCl 130 mM, NaHCO<sub>3</sub> 12 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 mM, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3 mM, MgSO<sub>4</sub> 2 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, phenol red 10 mg/L, pH 7.4. 사용직전에 type I collagenase 750 U/ml, human albumin 1 mg/ml, glucose 2 mg/ml를 첨가하였다)이 담긴 200 ml flask에 위점막 분쇄물을 옮기고 100% O<sub>2</sub>를 주입한 후 봉하여 37°C 수조에서 가볍게 흔들면서 반응시켰다. 120분 후, 위선세포가 분리되면 반응을 정지시키고 나머지 실험은 실온에서 행하였다. 위선세포의 분산액을 nylon cloth(200  $\mu\text{m}$ )로 여과하여 15 ml 시험관에 옮겼다. 시험관에 위선세포가 가라앉은 다음 상층액을 버렸으며, 이후 incubation medium을 사용하여 3회 세척함으로써 위선세포를 collagenase 없는 상태로 유지시켰다. 실험에 사용하는 incubation medium은 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.5 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 mM, NaHCO<sub>3</sub> 20 mM, NaCl 70 mM, KCl 5 mM, glucose 11 mM, Hepes 50 mM(pH 7.4), CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, BSA 1 mg/ml로 구성하였다<sup>22)</sup>. 분리한 위선세포는 trypan blue dye exclusion 방법으로 세포 생존율 90% 이상과 위상차 현미경으로 정상적인 세포형태를 확인한 후 실험에 사용하였다.

### 5. [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine 축적비율 측정

Aminopyrine은 약염기로서 산성인 위벽세포안으

로 확산된다. 그러므로 위선세포내의 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine의 축적비율은 위산분비능력의 지표로 사용된다.<sup>24-26)</sup> [ $^{14}\text{C}$ ]-Aminopyrine의 축적 실험은 Berglindh 등(1976)의 방법<sup>24)</sup>을 약간 수정하여 사용하였다. 요약하면 위선세포 분산액(25 mg 습중량/ml)을 약물투여군과 대조군으로 나누어 37°C 에서(인삼사포닌, 0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1 mg/ml 또는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub>, Rh<sub>2</sub>, 1 mg/ml) 100% 산소공급하에 30분 동안 반응시켰다. 30분의 반응시간은 위산분비 촉진에 대한 약물의 효능 실험을 위하여 적당하다고 보고된 시간<sup>24-26)</sup>이다. 본 연구에 사용한 ginsenoside의 농도(1 mg/ml)는 예비실험 결과 인삼사포닌의 위산분비 억제농도에 근거하여 선정하였다. 30분 후 위산분비 촉진상태를 유도하기 위해 histamine( $10^{-4}$  M)과 IBMX( $10^{-4}$  M)를 첨가하고 동시에 0.2  $\mu\text{Ci/ml}$  농도의 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine(109 mCi/mmol; Amersham, U.K.)을 위선세포 분산액에 첨가하여 37°C에서 60분간 100% 산소공급하에서 흔들며 반응시켰다. 기초산 분비를 유지하는 대조군에는 동량의 vehicle만 첨가한 후 동일 조건으로 반응시켰다. Vehicle로는 인삼사포닌과 histamine에는 증류수를, IBMX에는 dimethylsulfoxide를 사용하였다. 반응액을 원심분리(2,000 $\times$ g, 2분)하여 pellet은 1N NaOH 0.5 ml를 가하여 용해시킨 후 10 ml의 instagel<sup>®</sup>(Packard Instrument, Downers Grove, IL, U.S.A.)을 첨가하였다. 상층(1 ml)은 그대로 10 ml의 instagel<sup>®</sup>(Packard Instrument, Downers Grove, IL, U.S.A.)을 가한 후 방사능을 Beckman LS 5000 TA counter(Fullerton, CA, U.S.A.)로 측정하였다. 위선세포 용해액의 방사능(radioactivity of pellet, cpm<sub>p</sub>)과 위선세포의 반응액의 방사능(radioactivity of supernatant, cpm<sub>m</sub>)과의 비율로 위선세포의 산분비를 평가하였다. 본 실험에 앞서 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine 축적 실험의 적정성을 평가하기 위하여 여러종류의 secretagogues, 즉 dibutyl cAMP( $10^{-3}$  M) 및 histamine( $10^{-4}$  M)의 단독 첨가 또는 histamine( $10^{-4}$  M)과 3-isobutyl-1-methylxanthine(IBMX) ( $10^{-4}$  M)를 병용 첨가한 후 상기 방법과 동일조건(37°C, 60분, 산소공급)으로 반응시키고 세포내의 축적된 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine 비율로 위산분비 증가를 확인하였다.

[ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine 축적 비율(%) =  $\text{cpm}_p / \text{cpm}_m$

## 6. 위선세포내 cAMP 측정

[ $^{14}\text{C}$ ]-Aminopyrine 측정시 기술한 바와 같은 방법으로 인삼사포닌과 histamine( $10^{-4}$  M)과 IBMX ( $10^{-4}$  M) 단독 또는 병용 첨가하고 반응이 끝난후 원심분리하여 얻은 위선세포(75 mg 습중량/ml)를 200  $\mu\text{l}$ 의 Tris/EDTA buffer(50 mM/4 mM, pH 7.5)에 초음파 분쇄하였다. Phosphodiesterase 활성 억제와 단백질 응고를 위해 100°C 수조에 3분간 담근 뒤 20,000 $\times$ g로 2분간 원심분리하였다. Pellet은 버리고 상층액을 이용하였다. 상층액 50  $\mu\text{l}$ 를 취하여 시험관에 [ $^3\text{H}$ ]-cAMP 50  $\mu\text{l}$ 와 binding protein 100  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 얼음에 채운 상태로 냉장고(2~8°C)에 2시간 보관하였다. 활성화된 charcoal 100  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 5분간 얼음위에 방치하고 12,000 $\times$ g로 2분간 원심분리후 항원-항체 반응이 일어난 cAMP를 함유한 상층액 200  $\mu\text{l}$ 를 취한후 instagel<sup>®</sup>(Packard Instrument, Downers Grove, IL, U.S.A.) 5  $\mu\text{l}$ 를 넣고 4분간 방사능을 측정하였다. 위선세포내 함유된 cAMP 함량은 2-10 pmole 범위로 작성한 표준곡선을 이용하여 결정하였다.

## 7. 위선세포내 cGMP 측정

상기방법에 의하여 Tris/EDTA buffer(50 mM/4 mM, pH 7.5)로 초음파 분쇄한 위선세포 분산액을 phosphodiesterase 활성 억제와 단백질 응고를 위해 100°C 수조에 3분간 담근 뒤 20,000 $\times$ g로 2분간 원심분리하였다. 상층액 100  $\mu\text{l}$ 를 취하여 [ $^3\text{H}$ ]-cGMP 50  $\mu\text{l}$ 와 항 혈청 50  $\mu\text{l}$ 를 첨가하여 얼음에 채운 상태로 냉장조(2~8°C)으로 90분간 방치하였다. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 1 ml를 첨가하고 얼음물에 5분간 방치한 뒤 12,000 $\times$ g로 2분간 원심분리하여 면역화 반응이 일어나지 않은 cGMP를 함유한 상층액은 버리고 시험관을 뒤집어 용액이 흐르게 한 뒤 면봉을 이용하여 남은 용액을 완전히 제거하였다. 증류수 1.1 ml를 첨가하여 10분간 세워 두고 1 ml를 취하여 instagel<sup>®</sup>(Packard Instrument, Downers Grove, IL, U.S.A.) 5 ml를 넣고 4분간 방사능을 측정하였다. cGMP 농도는 2~10 pmole 범위로 작성한 표준곡선을 이용하여 결정하였다.

## 8. Lactic dehydrogenase(LDH) 유리 측정

인삼사포닌의 위선세포 생존율에 미치는 영향을 평가하기 위하여 반응액내 LDH 유리를 Babson 및 Phillips의 방법<sup>27)</sup>으로 측정하였다.

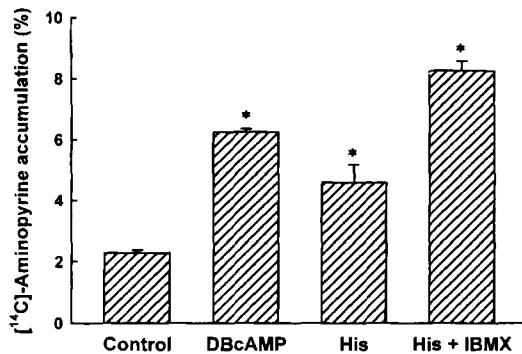
## 9. 통계처리

모든 결과는 "평균값±표준오차"로 표현하였으며, 실험군간의 변화양상을 검토하기 위하여 분산분석을 이용하였다(n=6). Post-hoc test로는 Newman-Keul test로 유의성을 검정하며 p값이 0.05이하일 경우 유의적 차이가 있는 것으로 평가하였다.<sup>28)</sup>

## 결과 및 고찰

### 1. 여러 종류의 secretagogue가 토끼 위선세포의 위산분비에 미치는 영향

본 실험에 사용하는 [<sup>14</sup>C]-aminopyrine 축적비율이 위산분비 측정지수로 적합한 지 평가하기 위하여 dibutyryl cAMP(10<sup>-3</sup> M) 및 histamine(10<sup>-4</sup> M) 단독 첨가와 histamine(10<sup>-4</sup> M)과 IBMX(10<sup>-4</sup> M) 병용 첨가후 토끼 위선세포에 나타나는 위산분비를 세포내외 [<sup>14</sup>C]-aminopyrine 축적비율(이하 AP 축적비율로 표시)로 측정하였다(Fig. 1). 기초상태의 AP 축적비율은 2.28±0.1% 이었으며, dibutyryl cAMP 첨가시 6.25±0.1%로 2.7배 증가하였다. Histamine 첨가시 4.58±0.6%, histamine과 IBMX 병용 첨가시 8.27±0.31%로



**Fig. 1.** Acid secretory responses of rabbit gastric cells to various secretagogues. Gastric cells were incubated with dibutyryl cAMP (10<sup>-3</sup> M) or histamine(10<sup>-4</sup> M) with or without IBMX (10<sup>-4</sup> M) for 60 min at 37°C. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine (0.2 μCi/ml) was added to the cells simultaneously. Control cells received a vehicle instead of the secretagogues. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

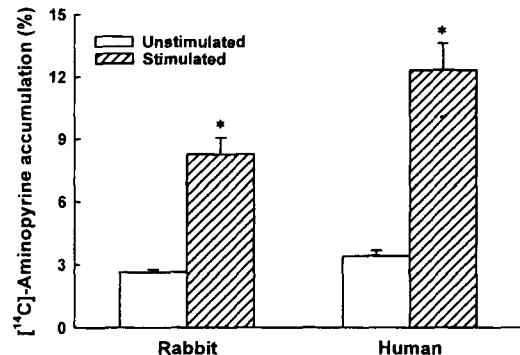
\*p<0.05 vs control. DBcAMP, dibutyryl cAMP; His, histamine; IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

AP 축적비율은 통계적으로 유의성 있게 증가하였다. 이는 Soll(1980)의 보고<sup>29)</sup>와도 일치하는 결과로서, 본 실험에서는 위산분비 촉진상태를 유도하기 위하여 AP 축적비율이 가장 많이 증가한 histamine(10<sup>-4</sup> M)과 IBMX(10<sup>-4</sup> M) 병용 첨가 방법을 사용하였다.

### 2. 토끼 및 인체 위선세포의 위산분비 변동

위산분비에 대한 약물의 효과 연구에 많이 사용되는 토끼 위선세포와 신선하게 분리한 인체 위선세포의 기초 및 촉진상태의 위산분비를 비교하였다(Fig. 2). 기초 산분비는 토끼의 경우 2.64±0.12%, 인체의 경우 3.40±0.25% 였으며, histamine(10<sup>-4</sup> M)과 IBMX(10<sup>-4</sup> M) 병용 첨가시 8.27±0.8% 및 12.33±1.3%로 각각 위산분비가 촉진되었다. 인체 위선세포에서 촉진제에 의한 효과가 기초 산 분비의 360%로 토끼의 경우(313%)보다 증가하였고, 기초 산 분비 역시 인체 위선세포의 산 분비(3.40%)가 토끼 위선세포의 산 분비(2.64%)보다 높음을 확인하였다. 인체 위선세포의 기초 및 촉진상태의 위산분비가 Leth 등의 보고<sup>30)</sup>와 약간 차이가 있으나 이는 인종간의 차이 및 개체의 건강상태에 따른 차이로 생각된다.

### 3. 인삼사포닌의 토끼 및 인체 위산분비에 미치는 영향



**Fig. 2.** Acid secretory responses of gastric cells isolated from rabbit and human gastric mucosa to the secretagogue. Gastric cells were incubated with histamine (10<sup>-4</sup> M) and IBMX (10<sup>-4</sup> M) with [<sup>14</sup>C]-aminopyrine (0.2 μCi/ml) for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs corresponding unstimulated. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

인삼사포닌을 토끼 및 인체 위선세포에 투여한 경우 기초 산분비는 변하지 않은 반면, histamine과 IBMX 병용 첨가로 촉진된 산분비는 인삼사포닌 1 mg/ml 투여로 25~27% 의의있게 감소되었다(Table 1, 2). 이와같은 결과는 인삼사포닌이 기초상태보다는 스트레스나 약물 등 여러 요인에 의해 증가된 촉진상태의 위산분비만 억제함을 나타내는 결과로서 인삼의 비특이적 적응성(nonspecific adaptation)<sup>30)</sup>을 증명하는 의의 있는 결과로 사료된다. 본 연구결과는 인삼

**Table 1.** Effect of ginseng saponin on acid secretion in rabbit gastric cells

Treatment	<sup>14</sup> C]-aminopyrine accumulation(%)	
	Unstimulated	Stimulated
Control	2.28±0.10	8.27±0.30 <sup>†</sup>
Ginseng 0.01 mg/ml	2.12±0.09	7.52±0.29
saponin 0.10 mg/ml	2.00±0.08	6.94±0.25
1.00 mg/ml	1.77±0.08	6.10±0.28*

Gastric cells were incubated with ginseng saponin for 30 min at 37°C. After adding histamine (10<sup>-4</sup> M) and IBMX (10<sup>-4</sup> M) with [<sup>14</sup>C]-aminopyrine (0.2 μCi/ml), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs stimulate control.

<sup>†</sup>p<0.05 vs unstimulated control.

**Table 2.** Effect of ginseng saponin on acid secretion in rabbit gastric cells

Treatment	<sup>14</sup> C]-aminopyrine accumulation	
	Unstimulated	Stimulated
Control	3.40±0.25	12.33±0.80 <sup>†</sup>
Ginseng 0.01 mg/ml	3.23±0.18	11.09±0.61
saponin 0.10 mg/ml	3.06±0.20	10.48±0.47
1.00 mg/ml	2.72±0.19	9.24±0.50*

Gastric cells were incubated with ginseng saponin for 30 min at 37°C. After adding histamine (10<sup>-4</sup> M) and IBMX (10<sup>-4</sup> M) with [<sup>14</sup>C]-aminopyrine (0.2 μCi/ml), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs stimulated control.

<sup>†</sup>p<0.05 vs unstimulated control.

IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

열매 사포닌의 histamine-H<sub>2</sub> receptor blocker 유사 작용<sup>15)</sup>과 인삼 꽃 사포닌의 항위궤양 효과<sup>13)</sup> 와도 관련된다고 생각된다. 또한 본 연구팀의 omeprazole 및 가역성 프로톤 펌프 억제제의 위산분비 억제에 대한 연구<sup>11)</sup>에서도 토끼 위선세포를 이용한 실험 결과와 인체 위선세포를 이용한 약물의 위산분비 억제효과가 유사함을 관찰하였다. 이와 같은 결과는 비교적 쉽게 정립할 수 있는 토끼 위선세포 실험모델의 인체 위산분비 억제제 screening model로서의 적합성을 나타내 준다.

#### 4. 인삼사포닌의 토끼 위선세포내 cGMP 및 cAMP 함량에 미치는 영향

토끼 위선세포내 cGMP 및 cAMP 함량(pmole/mg 단백질)은 0.40±0.07 및 2.68±0.33이었으며, histamine과 IBMX로 위선세포를 촉진시켰을 경우 1.84±0.11 및 16.99±0.66으로 통계적으로 유의성 있게 증가하였다. 촉진제에 의한 cyclic nucleotide 함량의 증가는 cAMP인 경우 기초상태의 6.3배를 나타냈으며, cGMP의 경우 기초상태의 4.6배의 함량을 나타내었다(Table 3, 4). 인삼사포닌을 0.01 mg/ml, 0.10 mg/ml 및 1.00 mg/ml 농도로 첨가한 경우 기초 및 촉진상태 모두에서 cyclic nucleotide의 함량 변동은 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과는 인삼사포닌의 촉진상태의 위산분비 억제기전에 cGMP가 관여하지 않으며, 인삼사포닌은 cAMP 함량엔 영향을 주지 않으나 촉진상태의 위산분비를 억제하므로 위산분비 경

**Table 3.** Effect of ginseng saponin on acid secretion in rabbit gastric cells

Treatment	cGMP (pmole/mg protein)	
	Unstimulated	Stimulated
Control	0.40±0.07	1.84±0.11*
Ginseng 0.01 mg/ml	0.42±0.06	1.80±0.10
saponin 0.10 mg/ml	0.41±0.07	1.82±0.09
1.00 mg/ml	0.39±0.06	1.82±0.10

Gastric cells were incubated with ginseng saponin for 30 min at 37°C. After adding histamine (10<sup>-4</sup> M) and IBMX (10<sup>-4</sup> M) with [<sup>14</sup>C]-aminopyrine (0.2 μCi/ml), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. [<sup>14</sup>C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs control. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

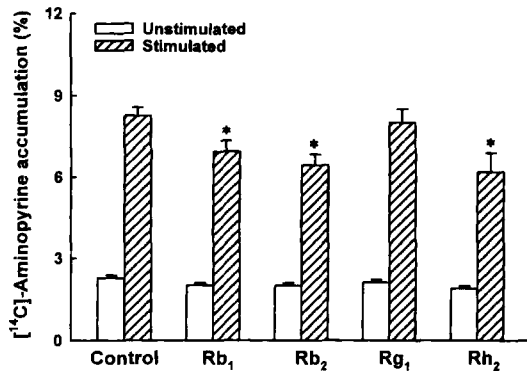
**Table 4.** Effect of ginseng saponin on acid secretion in rabbit gastric cells

Treatment	cGMP (pmole/mg protein)	
	Unstimulated	Stimulated
Control	2.38±0.33	16.99±0.66*
Ginseng 0.01 mg/ml	2.92±0.30	15.44±0.60
saponin 0.10 mg/ml	3.24±0.45	18.85±0.71
1.00 mg/ml	2.84±0.43	18.82±0.75

Gastric cells were incubated with ginseng saponin for 30 min at 37°C. After adding histamine ( $10^{-4}$  M) and IBMX ( $10^{-4}$  M) with [ $^{14}$ C]-aminopyrine (0.2  $\mu$ Ci/ml), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. cAMP levels were assessed by radioimmunoassay as described in the method. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs control. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

로중 cAMP 이후 단계인 PKA에 의한 단백인산화 과정이나 proton pump에 직접 영향을 주리라 생각된다. 세포의 종류는 다르나 갑상선 세포에서 인삼사포닌이 세포내 adenylate cyclase를 활성화시킴으로서



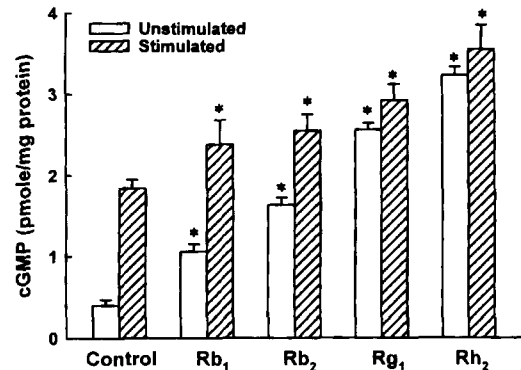
**Fig. 3.** Effects of ginsenosides on acid secretion in rabbit gastric cells. Gastric cells were incubated with ginsenosides (1 mg/ml) for 30 min at 37°C. After adding histamine ( $10^{-4}$  M) and IBMX ( $10^{-4}$  M) with [ $^{14}$ C]-aminopyrine (0.2  $\mu$ Ci/ml), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. [ $^{14}$ C]-Aminopyrine accumulation ratio (%) as an index of acid secretion represents the ratio of intra- to extra-cells radioactivity. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs stimulated control. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

cAMP를 증가시킨다는 보고<sup>32)</sup>와 일치하는 결과이다.

### 5. Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub> 및 Rh<sub>2</sub>의 토끼 위선세포의 위산분비, cGMP 및 cAMP 함량에 미치는 영향

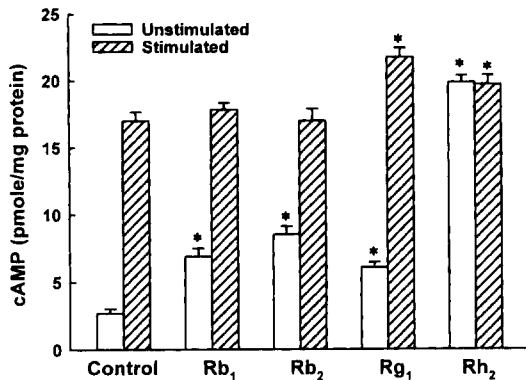
Ginsenosides(1 mg/ml)를 토끼 위선세포에 첨가한 경우 나타나는 위산분비의 변동(Fig. 3), 위선세포내 cGMP 함량(Fig. 4) 및 cAMP 함량(Fig. 5)을 측정하였다. 기초산분비는 변하지 않았으나 촉진상태의 위산분비는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub> 및 Rh<sub>2</sub>에 의하여 16~25% 억제되었다(Fig. 3). 위선세포내 cGMP 함량(pmol/mg 단백)은 기초상태에서  $0.40 \pm 0.07$ 을 나타내었으며, Rb<sub>1</sub> 첨가시  $1.06 \pm 0.07$ , Rb<sub>2</sub> 첨가시  $1.63 \pm 0.07$ , Rg<sub>1</sub> 첨가시  $2.56 \pm 0.08$ , Rh<sub>2</sub> 첨가시  $3.23 \pm 0.10$ 로 유의있게 증가되었다. Histamine과 IBMX 첨가로 촉진된 위선세포에 각 ginsenosides를 첨가한 경우에도 세포내 cGMP 함량은 증가하였다. cGMP 함량은 촉진상태의 경우  $1.84 \pm 0.11$ , Rb<sub>1</sub> 투여시  $2.38 \pm 0.3$ , Rb<sub>2</sub> 첨가시  $2.55 \pm 0.2$ , Rg<sub>1</sub> 첨가시  $2.92 \pm 0.2$ , Rh<sub>2</sub> 첨가시  $3.55 \pm 0.3$ 이었다(Fig. 4). cAMP 함량(pmol/mg 단백)은 기초상태  $2.68 \pm 0.3$  이었으며, Rb<sub>1</sub> 첨가시  $6.91 \pm 0.6$ , Rb<sub>2</sub> 첨가시  $8.52 \pm 0.6$ , Rg<sub>1</sub> 첨가시  $6.08 \pm 0.4$ 로 증가되었다. 특히 Rh<sub>2</sub> 첨가시  $19.85 \pm 0.5$ 로



**Fig. 4.** Effects of ginsenosides on cGMP levels of rabbit gastric cells. Gastric cells were incubated with ginsenosides (1 mg/ml) for 30 min at 37°C. After adding histamine ( $10^{-4}$  M) and IBMX ( $10^{-4}$  M), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. Intracellular cGMP levels were assessed by radioimmunoassay as described in the method. Values represent mean±S.E.

\*p<0.05 vs corresponding control. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

서 기초상태의 7배의 함량 증가를 나타내었다. 촉진상태의 위선세포에 대한 ginsenoside의 영향은 Rg<sub>1</sub>과 Rh<sub>2</sub> 첨가지만 증가되었다. 촉진상태의 cAMP 함량 (pmole/mg 단백질)은  $16.99 \pm 0.6$ 이었으며, Rg<sub>1</sub> 첨가시  $21.74 \pm 0.7$ , Rh<sub>2</sub> 첨가시  $19.7 \pm 0.7$ 을 나타내었다(Fig. 5). Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rb<sub>2</sub>, Rg<sub>1</sub> 및 Rh<sub>2</sub>의 촉진상태 위산분비에 대한 억제효과는 세포내 cAMP 나 cGMP 함량 변동보다는 오히려 cyclic nucleotide의 과잉생성을 초래함으로써 나타나는 또 다른 기전에 의한 영향이나 이들 ginsenosides의 proton pump에 대한 직접적인 작용으로 추정된다. 인삼사포닌은 각기 효능이 다른 30여종의 ginsenoside로 구성되어 있으므로 인삼사포닌의 촉진상태 위산분비에 대한 억제효과는 각각의 ginsenoside의 위산분비에 대한 혼합효과로 나타난다고 생각된다. 흰 쥐 뇌조직에 대한 인삼사포닌의 연구에서는 ginsenoside Rb<sub>1</sub>과 Rc가 adenylate cyclase와 guanylate cyclase에 대하여 상호 역작용을 하며, ginsenoside들이 각각 cGMP 및 cAMP 생성에 관여 하는 이들 효소의 활성을 조절함으로써 이중효과(dual effect)를 나타낸다고 설명하였다.<sup>43)</sup>



**Fig. 5.** Effects of ginsenosides on cAMP levels of rabbit gastric cells. Gastric cells were incubated with ginsenosides (1 mg/ml) for 30 min at 37°C. After adding histamine ( $10^{-4}$  M) and IBMX ( $10^{-4}$  M), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. Intracellular cAMP levels were assessed by radioimmunoassay as described in the method. Values represent mean  $\pm$  S.E. \* $p < 0.05$  vs corresponding control. IBMX, 3-isobutyl-1-methylxanthine.

## 6. 인삼사포닌의 토끼 위선세포 생존율에 미치는 영향

인삼사포닌의 위선세포의 생존율에 미치는 영향을 규명하기 위하여 반응액에 유리된 LDH 활성을 측정하였다. 세포생존 지표로 LDH 유리측정의 적합성 평가는 본 연구팀의 위선세포를 이용한 이전의 연구<sup>10)</sup>에서 증명되었다. 인삼사포닌을 기초와 촉진상태의 위선세포에 투여한 경우 LDH 유리는 변하지 않았다(Table 5). 반응이 끝난 후 유리된 LDH의 활성은 기초상태에서  $45.1 \pm 3.0$  WU/ml, 촉진상태에서  $48.0 \pm 3.9$  WU/ml이었으며, 인삼사포닌 첨가후 45.0~46.5 WU/ml 범위의 LDH 유리를 나타내었다. 그러므로 인삼사포닌의 촉진상태의 위산분비에 대한 억제효과는 인삼사포닌의 세포 독성에 의한 결과가 아님이 증명되었다.

결론적으로 인삼사포닌은 기초 산분비에는 영향을 주지않으나 촉진상태의 위산분비를 억제하였다. 인삼사포닌의 촉진상태의 위산분비에 대한 억제효과는 각각의 ginsenoside의 혼합효과로 나타나며, 인삼사포닌의 위산분비 억제부위는 histamine에 의한 위산분비 과정중 cAMP 다음 단계인 단백질 인산화 과정이나 proton pump에 대한 직접적인 효과로 추정되며 또한 cAMP 이외의 다른 위산분비 관련 신호전달 과정에 대한 작용 가능성도 제시된다. 인삼사포닌은 위선세포내 cGMP를 유도하지 않으므로, 인삼사포닌의 촉진상태의 위산분비 억제효과에 NO가 관여하지 않을 것으로 생각된다. 인삼사포닌이 기초상태보다는 스트레스나 약물 등 여러 요인에 의해 증가된 촉진상

**Table 5.** Effect of ginseng saponin on LDH release from rabbit gastric cells

Treatment	LDH release(WU/ml)	
	Unstimulated	Stimulated
Control	$45.1 \pm 3.0$	$48.0 \pm 3.9$
Ginseng 0.01 mg/ml	$45.8 \pm 4.1$	$46.5 \pm 4.0$
saponin 0.10 mg/ml	$46.0 \pm 4.0$	$45.1 \pm 3.0$
1.00 mg/ml	$45.0 \pm 3.5$	$45.5 \pm 4.0$

Gastric cells received ginseng saponin and incubated for 30 min at 37°C. After adding histamine ( $10^{-4}$  M) and IBMX ( $10^{-4}$  M), the cells were further incubated for 60 min at 37°C. Unstimulated cells received a vehicle instead of the secretagogue. Lactic dehydrogenase (LDH) release into incubation medium was determined. Values represent mean  $\pm$  S.E.



태의 위산분비만 억제함을 나타내는 본 연구결과는 인삼의 비특이적 적응성(nonspecific adaptation)을 증명하는 의의 있는 결과로서 스트레스, 약물, 알콜섭취, 흡연 등으로 증가 되는 위궤양의 예방 및 치료제로서의 인삼사포닌의 가능성을 제시하여 준다. 향후 연구로는 위벽세포로부터 위산분비에 직접 관여하는 proton pump( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase)를 분리하여 *in vitro* 상태에서 인삼사포닌의 proton pump에 대한 직접적인 효과를 관찰하여야 할 것이다.

## 요 약

인삼사포닌, acidic polysaccharide, methanol extract 등이 위궤양 환자나 위궤양 실험동물 모델에서 치유효과를 나타내었다. 기전으로는 histamine  $\text{H}_2$  receptor blocker로서의 작용과 위점막 혈류 증가 등이 제시되고 있다. 본 연구는 인삼사포닌의 위산분비에 미치는 영향 및 기전을 밝히고자 인체 및 토끼로부터 위선세포를 분리한 후 인삼사포닌, ginsenoside  $\text{Rb}_1$ ,  $\text{Rb}_2$ ,  $\text{Rg}_1$  및  $\text{Rh}_2$ 를 첨가하고, 기초 및 촉진상태의 위선세포내 생성되는 cAMP 및 cGMP 함량과 [ $^{14}\text{C}$ ]-aminopyrine 축적비율을 통한 위산분비의 변동을 측정하였다. 위산분비 촉진을 위하여 histamine( $10^{-4}\text{M}$ )과 IBMX( $10^{-4}\text{M}$ )를 병용 첨가하였다. 결과로서, 인삼사포닌은 기초 산분비에는 영향을 주지 않았으나, 1 mg/ml의 고농도에서는 촉진상태의 위산분비를 25~27% 억제하였고, 위선세포내 cyclic nucleotide 생성에는 영향을 주지 않았다. 촉진상태의 위산분비는 ginsenoside  $\text{Rb}_1$ ,  $\text{Rb}_2$  및  $\text{Rh}_2$ 에 의하여 16~25% 억제되었다. 결론적으로 인삼사포닌은 기초 산분비에는 영향을 주지않으나 촉진상태의 위산분비를 억제하였다. cGMP 함량은 모든 ginsenoside에 의하여 증가되었으며, cAMP 함량은 기초상태에서는 모든 ginsenoside에 의하여 증가되었으나, 촉진상태에서는 ginsenoside  $\text{Rg}_1$  및  $\text{Rh}_2$ 에 의하여 유의성있게 증가하였다. 인삼사포닌의 촉진상태의 위산분비 억제 효과는 각 ginsenoside의 혼합효과로 나타나며, 인삼사포닌의 위산분비 억제부위는 histamine에 의한 위산분비 과정중 cAMP 다음 단계인 단백질 인산화 과정이나 proton pump에 대한 직접적인 효과로 추정된다. 인삼사포닌은 cGMP 생성을 유도하지 않으므로 위산분비 억제과정에 NO의 직접적인 영향은 없을

것으로 생각된다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1995년도 고려인삼학회 연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인 용 문 헌

1. Sonnenberg, A., Berglindh, T., Lewin, M. J. M., Fisher, J. T., Sachs, G. and Blun, A. : in *Hormone receptors in digestion and nutrition*, Rosse-lin, G., Fromagot, P., Bonfil, S. Ed. Amsterdam: Elsevier/North- Holland, p. 337-348 (1979).
2. Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. : *Biochemical Pharmacol.*, **38**, 1709-1715 (1989).
3. Sanders, K. M. and Ward, S. M. : *Am. J. Physiol.*, **262**, G379-392 (1992).
4. Fesenko, E. E., Kolensnikov, S. S. and Lyubarsky, A. L. : *Nature* **313**, 310-314 (1985).
5. Whittle, B. J. R., Berry, S., Lopez-Belmonte, J., Boughton-Smith, N. K. and Moncada, S. : *Gastroenterology* **100**, A184 (1991).
6. Pique, J. M., Whittle, B. J. R. and Esplugues, J. V. : *Eur. J. Pharmacol.*, **174**, 293-296 (1989).
7. Whittle, B. J. R., Berry, S., Lopez-Belmonte, J. and Moncada, S. : *Br. J. Pharmacol.* **99**, 607-611 (1990).
8. Flemstrom, G. : in *Physiology of the gastrointestinal tract, 2nd ed*, Johnson, L. R. Ed. Raven press, New York, 1011-1029 (1987).
9. Takeuchi, K., Ohuchi, T., Miyake, H., Sugawara, H. and Okabe, S. : *Japan J. pharmacol.*, **60**, 303-305 (1992).
10. Kim, H. Y. and Kim, K. H. : *Pharmacology* **53**, 331-339 (1996)
11. 박은규 : 한국인삼연초연구원 보고서 (1984).
12. Yamahara, J., Kubomura, Y., Miki, K. and Fujimura, H. : *J. Ethnopharmacol.*, **19**(1), 95-101 (1987).
13. Zhang, S. C. : *Chung Yao Tung Pao*. **10**(7), 43-44 (1985).
14. Matsuda, H. and Kubo, M. : *Yakugaku Zashi.*, **104**(5), 449-53 (1984).
15. Zhang, S. C., Ni, G. C. and Hu, Z. H. : *Tradit. Chin. Med.*, **4**(1), 45-50 (1984).
16. Sun, X. B., Matsumoto, T., Kiyohara, H., Hirano, M. and Yamada, H. : *J. Ethnopharmacol.*, **31**(1),

- 101-107 (1991).
17. Cheng, X. J., Liu, A. J. and Wang, B. X. : *Yao Hsuoh Pao.*, **20**(8), 571-576 (1976).
  18. Suzuki, Y., Ito, Y., Komo, C. and Furuya, T. : *Yakugaku Zasshi* **111**(12), 770-774 (1991).
  19. Kim, H., Chen, X. and Gillis, C. N. : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **189**, 670-676 (1992).
  20. Kim, H. : *Kor. J. Toxicol.* **10**, 123-131 (1994).
  21. Kim, H. and Han, S. W. : *J. Appl. Pharm.*, **2**(2), 131-135 (1994).
  22. Berglinth, J. and Obrink, K. J. : *Acta Physiol. Scand.*, **96**, 150-159 (1976).
  23. Ostrowski, J. and Bomsztyk, K. : *Am. J. Physiol.*, **256**, C873-C879, 1989.
  24. Berglinth, T., Helander, H. and Obrink, K. J. : *Acta Phys. Scand.*, **97**, 401-414 (1976).
  25. Sack, J. and Spenny, J. G. : *Am. J. Physiol.*, **243**(Gastrointest. Liver Physiol. 6), G313-G319 (1982).
  26. Soll, A. H. : *Gastroenterology* **83**, 216-223 (1982).
  27. Babson A. L. and Phillips G. E. : *Clin. Chim. Acta* **12**, 210-215 (1965).
  28. Zar, Z. H. : *Biostatistical Analysis. 2nd ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, N. J.* (1984).
  29. Leth, R., Lundell, L. and Olbe, L. : *Scan. J. Gastroenterol.*, **26**, 89-96 (1991).
  30. Brekhman, I. I. and Dardymov, I. V. : *Ann. Rev. Pharmacol.*, **9**, 419-430 (1969).
  31. 김혜영, 김동구, 이봉용, 이종욱, 김경환 : *Kor. J. Physiol. Pharmacol.*, **1**, 337-343 (1997).
  32. 정경훈, 김세창, 정노팔 : *고려인삼학회지* **12**(2), 135-144 (1988).
  33. 서기림, 고문주, 이운영, 박인원, 이세영 : *고려인삼학회지* **7**(2), 95-101 (1983).