



## 감초성분 Carbenoxolone Disodium의 항위염 효과

조소연<sup>1</sup> · 이승호<sup>2</sup> · 최지영<sup>2</sup> · 신은명<sup>3</sup> · 강삼식<sup>3</sup> · 정정숙<sup>4</sup> · 정춘식<sup>4</sup>

<sup>1</sup>식품의약품안전청 한약평가팀, <sup>2</sup>영남대학교 약학대학, <sup>3</sup>서울대학교 약학대학, <sup>4</sup>덕성여자대학교 약학대학

## Antigastric Effect of Carbenoxolone Disodium from *Glycyrrhizae Radix*

So Yean Cho<sup>1</sup>, Seung-Ho Lee<sup>2</sup>, Ji-Young Choi<sup>2</sup>, Shin Eun Myoung<sup>3</sup>, Sam Sik Kang<sup>3</sup>,  
Jeong Suk Jeong<sup>4</sup> and Choon Sik Jeong<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Division of Herbal medicine Evaluation, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704

<sup>2</sup>College of pharmacy, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749

<sup>3</sup>Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460,

<sup>4</sup>College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Received June 7, 2007; Accepted June 15, 2007

*Glycyrrhizae Radix*, the dried roots of *Glycyrrhiza glabra* or *Glycyrrhiza uralensis* Fischer (Leguminosae), has been used as a medicine for treatment of inflammation, arthritis, respiratory ailment, skin diseases and liver problems. The purpose of this study was to examine the effect of 70% ethanol extract, 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, glycyrol and carbenoxolone disodium from *Glycyrrhizae Radix* on gastritis and gastric cancer. Using these materials, we tested antibacterial activity against *Helicobacter pylori*, antigastric activity for HCl-ethanol-induced gastric lesion and the pylorus ligated gastric secretion with rats, and cell viability in gastric cancer cell. 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid and carbenoxolone disodium decreased the volume of gastric secretion and acid output in pylorus ligated rats. Also, carbenoxolone disodium had a strong effect of antibacterial activity on *H. pylori*. In addition 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid and glycyrol reduced cell viability in human gastric cancer cells (AGS and SNU638 cell) in dose-dependent manner. The reduction of total acid output and gastric secretion as well as the antibacterial activity against *H. pylori* might account for the antigastric effects of carbenoxolone disodium.

**Key words:** 18- $\beta$ -Glycyrrhetic acid, Carbenoxolone disodium, *Glycyrrhizae radix*, Antigastric, Gastric cancer cell, *Helicobacter pylori*.

### 서 론

위염 및 위궤양의 치료는 제산제 등의 공격인자 억제제, 항콜린성 약물 및 히스타민성 H<sub>2</sub>-수용체 길항약, 항가스트린약, 수소펌프 저해제, 점막보호제, 프로스타글란딘 관련 약물 등의 위액분비 억제제, 항펩신활성을 갖는 방어인자 부활약, 스트레스에 기인하는 경우 정신적 안정을 위한 중추신경억제약 등이 사용되고 있으며, 최근에는 *H. pylori* 감염의 치료를 위해 amoxicilline, tetracycline 등

의 항생물질을 사용하고 있다. 그러나 이러한 화학합성 약물은 부정맥, 발기부전, 여성형 유방 등 여러 가지 부작용 및 재발의 문제로 인하여 보다 안전하면서 효과가 좋은 새로운 약물의 개발이 시급한 실정이다 (Ariypshi *et al.*, 1986). 수 천년동안 사용되어져 오던 생약(한약)은 임상적으로 사용되어져 오던 약효를 바탕으로 스크리닝 시 의약품의 개발에 빠른 정보를 제공할 뿐 아니라, 이미 그 안전성이 인정되고 있어 새로운 약물이나 건강기능식품의 개발 과정을 단축할 수 있을 것이다. 특히 감초는 생약을 주로 사용하는 중국, 일본, 한국 뿐 만아니라 유럽 등지에서도 생약제제 및 차 등의 형태로 수요가 급증하는 약재로 이에 대한 정확하고 과학적인 생리활성의 규명이 요구

Correspondence to: Choon Sik Jeong, College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea  
E-mail: choonsik@duksung.ac.kr

된다고 할 수 있다.

감초(*Glycyrrhizae Radix*)는 유럽감초 *Glycyrrhiza glabra* L., 만주감초 *Glycyrrhiza uralensis* Fischer(콩과 Leguminosae) 및 동속식물의 뿌리와 走出莖을 그대로 또는 周皮를 제거한 것이다. 구조가 밝혀진 성분은 대체로 triterpenoidal derivatives, flavone analogs, isoflavone 계의 세 계열로 구분된다. Triterpenoid 계열로는 glycyrrhizin, 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, liquoric acid, glycyrrhetol, 21- $\alpha$ -OH-isoglabrid, uralenic acid, 24-hydroxyglycyrrhetic acid의 methylester, glabric acid가 분리되었고, flavonoid 계열로는 isoliquiritigenin, neoliquiritin, neoisoliquiritin, trans-isoliquiritigenin 4'- $\beta$ -D-glucopyranoside, trans-isoliquiritigenin 4'- $\beta$ -D-glucopyranoside, saponeretin, rhamnoliquiritin, liquiritin, liquiritigenin, *iso*-liquiritin, *iso*-liquiritigenine, licoflavonol, methylallylkaempferol, liquirazine, prunetin, pinocembrin가 보고되어 있다. Isoflavonoid계열로는 licoricone, licochalcone A와 B, glycestrone, glycyrol, 5-O-methylglycyrol, isoglycyrol 외에 betulic acid, licoridin, 7-acetoxy-2-methylisoflavone, 7-methoxy-2-methylisoflavone, 7-hydroxy-2-methylisoflavone의 구조가 규명되었다(한대석 등 1995).

감초는 한국, 중국, 일본을 중심으로 주로 사용되는데, 전체 처방 중 약 60% 정도가 들어갈 정도로 흔하게 사용되는 다처방 한약제이다. 많이 사용되는 만큼 그 생리활성에 대한 연구도 활발히 되었는데, 그 추출물의 free radical scavenging효과, 세포 분화에 미치는 영향, tyrosinase 억제효과 및 항균효과 등에 대하여 보고된 바 있다(Kim *et al.*, 2003; Son *et al.*, 2003). 또한 감초의 성분 중 glycyrrhizin는 항염증효과 및  $CCl_4$ 에 의한 급성 간손상을 억제하고, 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid는 항궤양과 더불어 항염작용, glycyrrhetic acid는 항염증효과, 진통·해열 효과가 있는 것으로 밝혀졌다(Andrea *et al.*, 2000). 특히 glycyrrhetic acid의 hydrosuccinate염 화합물은 상품화되어(carbenoxolone)있어 pyloric sphincter에 작용하여 강력한 항궤양작용을 하는 것으로 알려져 있으며(Farina *et al.*, 1998), 항경련효과도 있는 것으로 밝혀진 바 있다(Gareri *et al.*, 2005). 또한 carbenoxone은 위점막에서 프로스타글란딘을 분비하여 위보호 효과를 나타낸다고 보고되었다(Franco *et al.*, 1993). Glycyrrhetic acid는 mineral corticoid receptor에 어느 정도 친화력을 갖고 있으므로 무기질대사에 관여하는 mineral corticoid action이 있으며, 또한 blood cholesterol,  $\beta$ -lipoprotein, triglyceride를 유의성 있게 감소시키기 때문에 hyperlipemia에 유효하여 antiatherosclerotic effect도 또한 큰

것으로 알려져 있다(Zakirov *et al.*, 1996). Ester 형태는 antiinflammatory, antimalarial, antiarthritic activity를 지닌다(Kim *et al.*, 2004). 감초의 isoflavonoids류 성분은 estrogenic activity가 있다(Kenji *et al.*, 1999). 또한 isoflavonoid 성분 중 glycyrol은 호흡기 감염증에 대한 항박테리아 효과가 있다고 보고되었다(Tanaka *et al.*, 2001).

본 연구에서는 전통적으로 항염증 작용을 갖거나 위장 질환에 사용되었던 생약(한약) 중 감초의 70% 에탄올 추출물, 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium가 위염, 위손상 및 위암의 주요 원인이 되는 인자에게 미치는 영향과 국가 한약재 품질과학화를 위한 연구로써 생리활성효능을 알아보하고자 하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료 및 기구.** *H. pylori* strain인 HP ATCC43504는 ATCC사로부터 구입한 것을 사용하였으며, HCl 및 methanol, ethanol 등은 Duksan Chem. Co.사, cimetidine, ampicillin, aspirin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma Chem. Co.(St. Louis, MO, U.S.A.)으로부터 구입하여 사용하였으며, 그 밖의 기타시약은 일급 시약 이상을 사용하였다. 기기는 Duksan Chemical Co.의 건열멸균기, Johnsam Co.의 clean bench 및  $CO_2$  incubator, Agilent의 UV spectrophotometer, Satorious의 pH meter를 사용하였다. Silica(Si) gel 60(70~230 mesh) 및 RP-18 gel(40~63 mm)은 Merck사 (Germany)의 제품을 사용하였고, Sephadex LH-20은 Sigma Chem. Co.(Sigma, St. Louis, MO)로부터 구입하여 크로마토그래피를 실시하였다. 박층크로마토그래피는 pre-coated Merck Kieselgel 60 F<sub>254</sub> plate(20×20 cm, 0.25 mm) 및 RP-18 F<sub>254S</sub> plate를 Merck사 제품을 이용하여 실시하였다.

**실험동물.** 오리엔트(주)에서 분양 받은 체중 200~250g의 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를  $22 \pm 2^\circ C$ 에서 1주간 이상 사육하여 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 동물 실험 내의 병암은 12시간씩으로 자동조절 시키고, 고형사료(삼양사료) 및 물은 충분히 공급하였다.

## 시료의 추출 및 분리.

**Carbenoxolone disodium salt 제조:** 50 ml 피리딘에 23.5 g의 글리시리진산을 용해시키고 무수숙신산(succinic anhydride) 6.0 g과 트리에틸아민(triethylamine) 30 ml를 가하였다. 10시간 동안 수욕 상에서 가열시킨 후, 반응

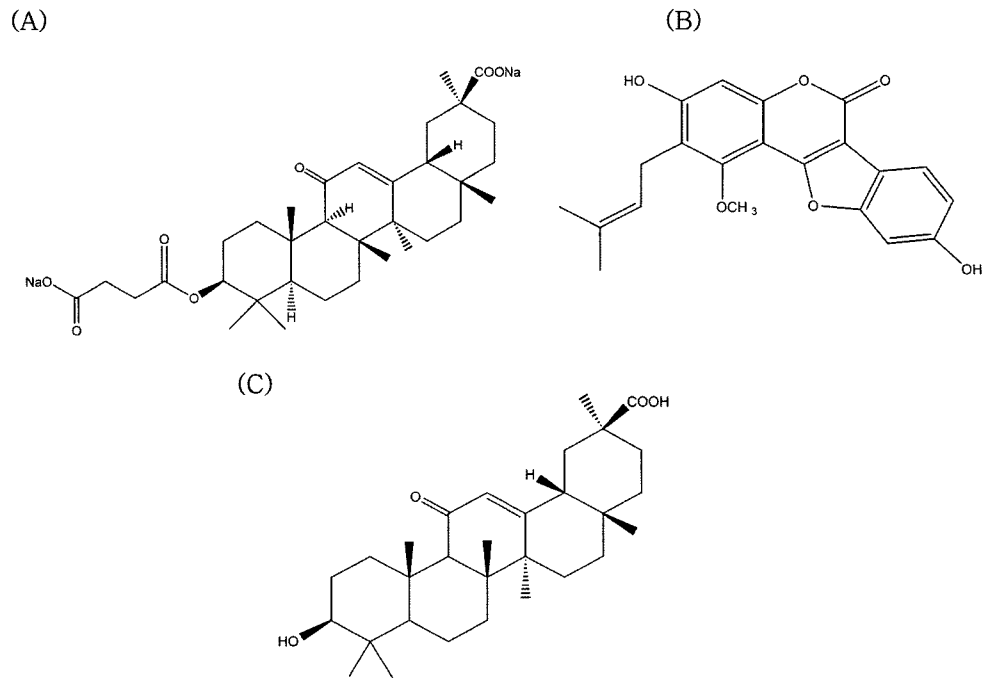


Fig. 1. Chemical structures of 18-β-glycyrrhetic acid (A), glycyrol (B) and carbenoxolone disodium (C).

액을 냉각시켜 생성된 회색 침전물을 여과한 다음, 클로로포름에 용해하고 황산나트륨으로 건조시키고 농축했다. 반응물을 메탄올로 재결정하여 크림색의 결정인 carbenoxolone을 얻었다. 이를 5% 수산화나트륨 수용액으로 처리하여 흰색의 수용성 고체인 carbenoxolone disodium salt를 얻었다(Fig. 1).

**18-β-glycyrrhetic acid과 glycyrol의 추출 및 분리:** 건조한 감초의 뿌리 10 kg을 메탄올로 상온에서 일주일씩 2회 반복 추출하여, 추출액을 감압 농축하였다. 메탄올 추출액을 증류수에 현탁시키고 동량의 에틸아세테이트(ethyl acetate)를 가한 다음, 분획갈때기로 수층과 에틸아세테이트층을 진탕분획을 3회 반복 실시한 후, 각각의 층을 모아 감압 농축하여 에틸아세테이트 분획과 물 분획을 얻었다. 얻어진 에틸아세테이트 분획 200 g을 실리카겔 컬럼을 이용하여 다음과 같이 분획하였다. 지름 12 cm인 컬럼에 실리카겔을 60 cm 채우고 디클로로메탄으로 세척하여 고정상을 균일한 상태로 만든 후 시료를 적용하였다. 이동상으로는 메탄올 : 디클로로메탄 = 1 : 9 부터 메탄올의 비율을 10%씩 높이면서 유출시켜, 분획 1~3을 얻었다.

분획 1(105 g)을 지름 5 cm인 컬럼에 MCI-gel CHP-20P를 40 cm 채우고, 메탄올 : 물 = 2 : 3 혼합용매를 유출시켜 고정상을 균일한 상태로 만든 후 시료를 적용하였다. 그 후 메탄올의 비율을 10% 단위로 높이면서 이동상을 유출시켜 분획 1-1부터 분획 1-4를 얻었다.

분획 1-4(34.3 g)는 지름 5 cm의 컬럼에 실리카겔을

45 cm 채우고 100% n-헥산을 유출시켜 고정상을 균일한 상태로 만든 후 시료를 실리카겔에 코팅하여 적용하였다. 그 후 아세톤 : n-헥산 = 1 : 9부터 아세톤의 농도를 5%씩 높여가면서 이동상을 유출시켜 분획 1-4-1부터 1-4-6을 얻었다.

1-4-2(3.9 g)는 지름 4.5 cm의 컬럼에 실리카겔을 40 cm 채우고 메탄올 : 물 = 1 : 1을 유출시켜 고정상을 균일하게 만든 후 시료를 적용하였다. 그 후 메탄올 : 물 = 1 : 1로부터 메탄올의 농도를 10%씩 높여가면서 이동상을 유출시켜 glycyrol(110 mg)을 얻었다(Fig. 1).

분획 1-4-4를 지름 0.6 cm인 컬럼에 실리카겔을 72 cm 채우고 클로로포름을 유출시켜 고정상을 균일한 상태로 만든 후 시료를 적용하였다. 이동상은 벤젠 : 클로로포름 = 0 : 10 부터 벤젠 : 클로로포름 = 40 : 60까지 농도구배를 주어 유출시켜 18-β-glycyrrhetic acid(120 mg)를 얻었다(Fig. 1).

**제산력 시험법:** 제산력 시험법은 위산과 반응하여 제산 작용을 나타내는 제제의 제산력을 구하는 시험법으로, 감초 70% ethanol 추출물을 사용하여 pH 변화를 확인 한 후 성분에 대하여 실험하였다. 대한약전에 명시된 제산력 시험법을 변경하여 0.1 N 염산에 검체 1 mg 취하여 혼합 후 37°C의 shaking incubator에서 1시간 동안 반응시킨 후 0.1 N 수산화나트륨 수용액으로 적정하였다. 지시약으로 메틸오렌지, 양성대조약물로 hydrotalcite와 cimetidine을 사용하였다(대한약전 제8개정, 2003).

**DPPH 시험법:** *In vitro*에서의 직접적인 free radical scavenging효과를 측정하고자 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 제거 활성을 측정하였다. 즉 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, glycyrol, carbenoxolone disodium에 메탄올을 가하여 120, 80, 40, 20, 10, 5 및 2.5  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도가 되도록 조제하고 4 ml씩 시험관에 취하였다. 여기에  $1.5 \times 10^{-4} \text{M}$  1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl/methanol 용액 1 ml를 가한 다음 잘 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 효과는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical을 50% 제거하는 농도(IC<sub>50</sub>)로 표시하고, 양성대조약물로 L-ascorbic acid를 사용하였다(Uchiyama *et al.*, 1968).

**H. pylori에 대한 항균작용:** *H. pylori* strain인 HP ATCC43504는 ATCC사로부터 구입하여 Kim 등의 방법으로 실험하였다(Kim *et al.*, 2003). *H. pylori* 생장 억제효과를 확인하기 위하여 먼저 brucella agar배지 및 7%의 horse serum이 담긴 petri dish에 해당농도로 DMSO에 용해한 검체를 주입하고 여기에  $5 \times 10^5$  CFU의 *H. pylori*를 분주하여 37°C에서(AnaeroPak Campylo : 85% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> and 5% O<sub>2</sub>) 3일간 배양한 후 생성된 colony를 계수하였다. 양성대조군으로써 ampicillin을 사용하였다.

**세포독성:** 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, glycerol 및 carbenoxolone disodium의 세포독성을 확인하고자 위암세포주인 AGS와 SNU638 세포주를 한국세포주은행(KLCB)으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 실험방법은 각 세포를  $1.0 \times 10^4$ 개씩 96 well plate에 분주한 후 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator조건에서 배양 한 후 배지를 교환하고 각 시료를 농도별로(10, 50, 100, 200  $\mu\text{M}$ ) 처리하여, 24시간 동안 배양하였다. 세포독성은 무처리 대조군에 대한 생존세포의 비율로 결정하였으며, CCK-8 (Dojindo, Japan) Kit을 사용하여 확인하였다(Ahn *et al.*, 2005).

**HCl·ethanol 유발 위손상에 대한 효과:** 체중 약 200 g 전후의 웅성 흰쥐를 24시간 절식시킨 뒤 Mizui의 방법에 따라 실험하였다(Mizui and Dodeuchi, 1983). 즉, 절식시킨 흰쥐에 HCl·ethanol액(60% EtOH에 150 mM HCl 함유) 1 ml을 경구투여 하고 절식절수 하에서 1시간 방치 후 과량의 에테르로 치사시켜 위를 적출하였다. 적출한 위를 2% formalin 수용액으로 10분간 침적하여 위 내외를 가볍게 고정한 다음 대만부를 절개하여 선위부에 발생한 손상의 길이(mm)의 총화를 위 손상지수로 하였다. 검체는 HCl·ethanol을 투여하기 30분 전에 용량별로 경구투여 하였다. Inhibition ratio(%)는 다음의 식에 의하여 계산하였다.

Inhibition ratio (%) =

$$\frac{\text{lesion length (control)} - \text{lesion length (drug)}}{\text{lesion length (control)}} \times 100$$

**기초 위액 분비에 대한 실험:** 체중 약 200 g 전후의 웅성 흰쥐를 24시간 절식시킨 뒤 에테르 마취하에 유문결찰하고 위액분비량을 Shay 등의 방법으로 측정하였다(Shay *et al.*, 1945). 즉 흰쥐를 에테르 마취 하에 개복하고 유문부를 결찰 한 즉시 검체를 십이지장내로 주입하고 봉합한 후 4시간 후에 에테르로 치사시켜 위를 적출하고 저류된 위액을 채취하였다. 채취한 위액은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 다음 상정액을 취하여 위액량, pH 및 산도를 측정하였다. 산도는 메틸 오렌지를 지시약으로 하여 0.05 N 수산화나트륨 수용액으로 적정하여 구하였다.

**통계처리:** 모든 실험결과는 평균  $\pm$  표준오차(Mean  $\pm$  S.E.)로 계산하였다. 각 군간의 유의성 검정은 Student's *t*-test를 사용하였고, *p*값이 5% 미만일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과 및 고찰

**제산력 시험법.** 감초 70% ethanol추출물의 pH 변화는 위염과 같은 상태의 위액을 제조하여 시료를 가하고 처리 한 후 측정된 NaOH 소비량으로 결정하였다. 감초 추출물의 경우 대조군에 비하여 NaOH 소비량을 7.2% 억제시켰다. 감초 성분의 제산력은 Table 1에 나타난 바와 같이 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, glycerol 및 carbenoxolone disodium의 NaOH 소비량에 따른 억제력은 15.9%, 12.6%, 10.2%로서 본 실험에서 사용한 양성 대조군인 hydrotalcite의 67.6%에 비해서는 억제력이 약하나 cimetidine의 12.0%와 비슷한 효과를 나타내었다. 이는 제산력이 제산제인 hydrotalcite보다는 약하나 과량이

**Table 1.** Acid-neutralizing capacity of 70% ethanol extract and compounds from *Glycyrrhizae Radix*

Material	NaOH consumption volumn	Inhibition (%)
Control	113.3 $\pm$ 5.8	-
70% extract	105.2 $\pm$ 5.2	7.2
18- $\beta$ -Glycyrrhetic acid	95.3 $\pm$ 5.0*	15.9
Glycyrol	99.0 $\pm$ 1.7	12.6
Carbenoxolone disodium	101.7 $\pm$ 5.6	10.2
Hydrotalcite	36.7 $\pm$ 2.6	67.6
Cimetidine	99.7 $\pm$ 0.6**	12.0

The value are mean  $\pm$  S.E.

\**p* < 0.05 \*\**p* < 0.001, Significantly different from the control group (n = 5).

**Table 2.** Free radical scavenging effect of 70% ethanol extract and compounds from *Glycyrrhizae Radix*

Material	IC <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>a)</sup>
Control	-
70% extract	>160
18-β-Glycyrrhetic acid	>160
Glycyrol	13.0
Carbenoxolone disodium	>160
L-Ascorbic acid	2.5

<sup>a)</sup>Concentration required for a 50% reduction in absorbance of DPPH radical at 520 nm.

나 장기간 복용 시 효과가 있을 것이라 생각된다.

**DPPH 시험법.** *In vitro*에서의 직접적인 free radical scavenging효과를 측정하고자 0.15 × 10<sup>4</sup>M/ml 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl에 대한 감초 70% ethanol추출물의 활성산소소거능력을 측정하여 억제력을 IC<sub>50</sub>으로 나타내었다. 감초의 70% ethanol추출물, 18-β-Glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium은 free radical의 제거능을 측정하였을 때 유의성 있는 결과를 나타내지 않았으나, glycyrol의 IC<sub>50</sub>은 13.0 μg/ml로 free radical제거능력이 확인되었다(Table 2).

**H. pylori에 대한 항균작용.** *H. pylori*감염은 만성위염, 소화성궤양의 주요발병요인이며 이 균에 의한 장기간의 감염은 위암의 발병원인으로 알려져 있다. 감염환자의 위점막은 위세포점액의 손실, 세포괴사나 탈락 등으로 나타나는 급성, 만성적 염증과 상피세포의 변성현상이 나타나는데 상피세포의 손상은 균의 분비물질에 의한 직접적인 영향으로 일어나거나 *H. pylori*에 의한 염증반응의 결과로 알려져 있다. 감초의 70% ethanol 추출물은 1 mg/

**Table 3.** Colonization inhibiting effect by 70% ethanol extract and compounds from *Glycyrrhizae Radix* for *H. pylori*

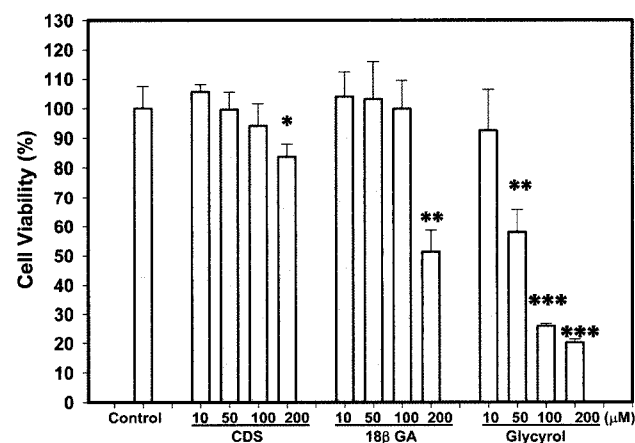
Material	Dose (ug/ml)	Colonization
Control	-	+++
70% extract	1000	+++
18-β-Glycyrrhetic acid	10	+++
	50	+
	100	+
Glycyrol	10	+++
	50	+++
	100	+++
Carbenoxolone disodium	10	+
	50	-
	100	-
Ampicillin	100	-

+++ : colonies (over 5), ++ : colonies (3-4), + : colonies (1-2), - : none.

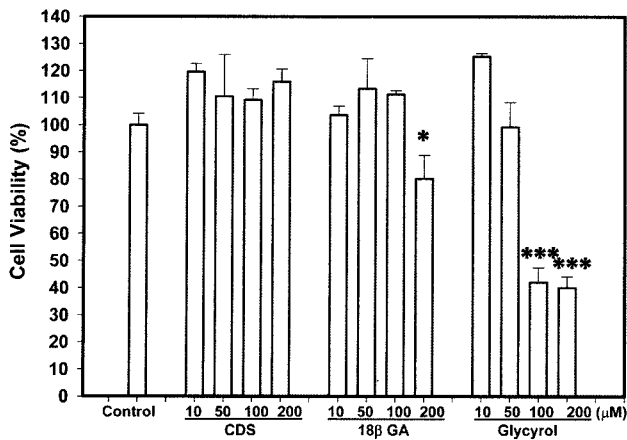
ml의 농도에서, glycyrol은 10, 50, 100 μg/ml의 농도로 항균실험을 실시한 결과, colony의 수가 대조군에 비하여 감소된 것을 확인할 수는 없었다. 감초 추출물로부터 분리한 18-β-glycyrrhetic acid을 50, 100 μg/ml의 농도로 처리하였을 때 colony의 수가 감소되었고, carbenoxolone disodium의 경우에는 같은 농도에서 colony의 생성이 완전히 억제된 것을 확인할 수 있었다(Table 3). 즉 감초추출물 중 18-β-glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium의 성분이 *H. pylori*의 증식을 강력하게 억제함으로써 *H. pylori*의 위궤양 및 위암 기전인 carcinogen에 대한 저항성저하, mucosal hyperproliferation유발, carcinogenic N-nitroso compound의 증가 및 ascorbic acid의 분비감소 등을 완화하고 2차적인 감염의 증상들을 효과적으로 예방할 수 있을 것으로 생각된다.

**세포독성.** 각 시료를 농도별로 24시간 동안 배양한 후 CCK-8을 이용하여 세포독성을 확인하였으며 3반복의 개별시험의 결과를 평균값 ± 표준편차로 계산하여 대조군에 대한 백분율로 나타낸 결과를 Fig. 1, 2에 나타내었다.

Carbenoxolone disodium은 AGS와 SNU638 세포주에 대한 독성을 나타내지 않았고 18-β-glycyrrhetic acid는 200 μM농도에서 AGS cell에 대하여 48.6%, SNU638 세포주에 대하여 19.9%의 독성을 나타내었다. 반면, glycyrol은 농도 의존적 세포 독성을 나타내었으며 AGS와 SNU638 세포주에 대하여 각각 65.32 μM 및



**Fig. 2.** Cell cytotoxicity of compounds to SNU638. Cells were incubated for 24 hours with indicated concentrations. Cell viability was determined by using Cell Counting Kit (CCK8, Japan) and expressed as ratio percentage to control. The values are presented as means ± SD of triplicate tests. Statistical analysis was performed using unpaired Student's t-test; The values \*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001 are considered to be significantly different from control. CDS : Carbenoxolone disodium, 18GA : 18-β-glycyrrhetic acid.



**Fig. 3.** Cell cytotoxicity of compounds to AGS. Cells were incubated for 24 hours with indicated concentrations. Cell viability was determined by using Cell Counting Kit (CCK8, Japan) and expressed as ratio percentage to control. The values are presented as means ± SD of triplicate tests. Statistical analysis was performed using unpaired Student's *t*-test; The values \**p* < 0.05, \*\*\**p* < 0.001 are considered to be significantly different from control. CDS : Carbenoxolone disodium, 18GA : 18-β-glycyrrhetic acid.

**Table 4.** IC<sub>50</sub> values of cell cytotoxicity

Material	SNU638 (uM)	AGS (uM)
18-β-Glycyrrhetic acid	>200	>200
Glycyrol	63.52	94.93
Carbenoxolone disodium	>200	>200

94.93 uM의 IC<sub>50</sub>값을 나타내었다(Table 4).

**HCl-ethanol 위손상에 대한 효과.** 흰쥐에 공격인자인 HCl-ethanol 경구로 투여하면 위점막에서 지질과산화증가 및 병리학적 점막손상을 유발한다는 보고(Ito *et al.*, 1992)에 따라 감초 성분 중 18-β-glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium의 항위염 효과를 Table 5에 나타내었다. Carbenoxolone disodium을 10, 50, 100 mg/kg 투여시 위 손상지수가 각각 6.2 ± 0.3, 4.3 ± 0.4, 2.5 ± 0.5로 각각 4.6, 33.9, 61.5%의 용량존적으로 유의성 있는 위손상 억제 효과를 나타내었고, 100 mg/kg

**Table 5.** The effects of 18-β-glycyrrhetic acid and carbenoxolone disodium on HCl-ethanol-induced gastric lesions in rats

Material	Dose (mg/kg)	Lesion index (mm)	Inhibition rate (%)
Control	-	6.5 ± 1.1	-
18-β-Glycyrrhetic acid	10	6.3 ± 0.4	3.1
	50	6.8 ± 0.3	-4.6
	100	5.6 ± 1.8	13.9
Carbenoxolone disodium	10	6.2 ± 0.3	4.6
	50	4.3 ± 0.4*	33.9
	100	2.5 ± 0.5**	61.5
Cimetidine	200	2.8 ± 0.9**	56.5
Sucralfate	350	0.34 ± 0.3**	94.7

The value are mean ± S.E.

\**p* < 0.01 \*\**p* < 0.001, Significantly different from the control group (n = 6).

투여 시는 양성 대조약물인 cimetidine이 억제한 효과보다 우수한 효과를 나타내었다. 18-β-glycyrrhetic acid를 투여한 군에서는 유의적인 효과를 나타내지는 않았으나, 100 mg/kg 투여시 13.9% 정도 억제되는 경향성을 나타내었다. 양성 대조약물인 cimetidine은 200 mg/kg 용량에서 2.8 ± 0.9 mm의 위 손상지수를 보여 control의 6.5 ± 1.1 mm에 비해 56.5%의 위손상 억제효과를 나타내었다. HCl-ethanol 위손상을 유발시킨 위의 모습은 대조군의 선위부에 선형의 hemorrhage가 심하게 나타나고, 전체적인 조직이 얇아져 있으며, 색상이 흐려진 것에 비하여 18-β-glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium 투여군에서는 손상이 현격하게 줄어들었으며, 전체적인 조직의 탄력과 색상에 있어 정상군과 큰 유의적 차이를 나타내지 않았다. 즉 18-β-glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium은 유의성 있는 방어효과가 있었으며, 이를 통하여 공격인자인 염산에 대해 점액의 분비 증가나 방어 인자의 존재를 추측할 수 있다.

**기초위액 분비에 대한 실험.** 검체의 기초위액분비에 대한 영향을 실험한 결과는 Table 6에 나타내었다. 대조군과 비교하였을 때 18-β-glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium 100 mg/kg 경구투여시 기초위액 분

**Table 6.** The effects of 18-β-glycyrrhetic acid and carbenoxolone disodium on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Material	Dose (mg/kg)	Volume	pH	Total acid output (mEq/4 hrs)
Control	-	6.6 ± 1.7	1.7 ± 0.4	0.5 ± 0.1
18-β-Glycyrrhetic acid	100	6.3 ± 2.4	2.2 ± 0.3*	0.4 ± 0.2*
Carbenoxolone disodium	100	5.2 ± 1.6	2.2 ± 1.3*	0.3 ± 0.2*
Cimetidine	200	3.1 ± 1.6**	2.7 ± 1.6**	0.2 ± 0.1**
Sucralfate	350	5.1 ± 1.1*	1.0 ± 0.1*	0.5 ± 0.1*

The value are mean ± S.E.

\**p* < 0.05 \*\**p* < 0.01, Significantly different from the control group (n = 6).

비량은 각각  $6.30 \pm 2.43$  및  $5.21 \pm 1.59$ 으로 약 4.7% 및 21.2% 감소시켰다. pH를 측정한 결과 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium는 각각  $2.15 \pm 0.32$  및  $2.19 \pm 1.30$ 로 대조군의  $1.74 \pm 0.37$ 에 비하여 유의적인 증가를 나타내어 위산도를 증가시킴을 확인할 수 있었다. 총산배출량은 대조군의 0.54 mEq/4 hr에 비교하여 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium은 0.38 및 0.31 mEq/4 hr를 나타내어 대조군과 유의성 있는 차이를 보였다. 즉 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium는 위산의 위액량의 감소에는 영향을 미치지 못하였으나, pH를 증가 시켜 이것으로 인하여 총산분비량을 억제하여 위에 대한 공격인자를 감소시켰을 것으로 추측된다.

## 결 론

감초는 생약(한약)의 주요 사용국인 한국, 일본, 중국 등 동남아 국가뿐 아니라, 유럽 및 미국에서도 약용의 목적 뿐 아니라 여러 가지 건강기능식품, 감미료, 차 등의 형태로도 사용이 많은 약재이다. 본 연구에서는 감초추출물 및 그 성분의 여러 가지 약리작용 중 위염 모델 및 위암 세포에 미치는 영향에 대하여 알아보하고자 하였다. 70% 에탄올 추출물 및 성분 중 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, glycyrol 및 carbenoxolone disodium의 제산력, free radical scavenging 효과, *H. pylori*에 미치는 영향 및 위암세포의 성장에 미치는 영향을 확인하였으며 그 중 효과가 있는 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid 및 carbenoxolone disodium의 HCl·ethanol 유발 위손상 모델에서 위손상 억제효과와 흰쥐의 위액분비에 미치는 영향에 관하여 검토하였다. HCl·ethanol 유발 위손상 모델에서 위손상 억제효과 및 흰쥐의 위액분비억제 및 4시간 동안의 total acid output 감소효과를 확인하였다. 따라서 감초 중 18- $\beta$ -glycyrrhetic acid, carbenoxolone disodium은 항위염 및 *H. pylori*에 대한 지표물질로 지정할 수 있을 것이며 감초추출물 및 그 유효성분을 이용하여 위염 치료제 개발 및 질병예방차원에서 기능성식품개발에도 응용할 수 있으리라 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 2005년도 식품의약품안전청(한약재 생리활성효능 확인 연구)의 지원과 2005년 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국 학술진흥재단의 지원(KRF-2005-005-J13002)에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- 한국약학대학협의회약전분과회편저 (2003). 대한약전 제8개정 해설서. 문성사, 서울, pp. 264-265.
- 한대석 저 (1995). 生藥學. 동명사, 서울 pp. 191-194.
- 육창수, 김성만, 정진모, 정명숙, 김정화, 김승배 (1995) : 한약의 약리성분, 임상응용. 계축문화사, 서울, pp. 414-416.
- 조훈, 원성란, 양은영, 김종수, 유일수, 류도곤, 이정호, 강길웅, 백승화 (1999). 감초추출물의 항균효과(I). 약학회지, **43**, 419-422.
- Andrea, T.B., Shinya, S., Gary, L.H., Martha, R., Harkey, C.L., Keen, J. S., Katsutoshi, T. and Eric, G. (2000). Shosaikoto and other Kampo (Japanese herbal) medicines: a review of their immunomodulatory activities, *J. Ethnopharmacol.*, **73**, 1-2, 1-13.
- Ahn, K.S., Noh, E.J., Zhao, H.L., Jung, S.H., Kang, S.S. and Kim, Y.S. (2005). Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II by platycodon grandiflorum saponins via suppression of NF- $\kappa$ B activation in RAW 264.7 cells. *Life Sci.*, **76**, 2315-2328.
- Ariyoshi, I., Toshiharu, A., Sugimura, F., Abe M., Matsuo, Y. and Honda, T. (1986). Recurrence during maintenance therapy with histamine H<sub>2</sub> receptors antagonist in case of gastric ulcers. *Nihon University Journal of Medicine*, **28**, 69-74.
- Farina, C., Pinza, M. and Pifferi, G. (1998). Synthesis and anti-ulcer activity of new derivatives of glycyrrhetic, oleanolic and ursolic acids. *Il Farmaco.*, **53**, 22-32.
- Franco, L., Manara, P., Erbeti, I. and Velo, G.P. (1993). Anti-ulcer activity of carbenoxolone and ISF 3401 on PGE<sub>2</sub> release in rat gastric mucosa. *Pharmacol. Res.*, **27**, 141-150.
- Gareri, P., Condorelli, D., Belluardo, N., Citraro, R., Barresi, V., Trovato-Salinato, A., Mudò, G., Ibbadu, G.F., Russo, E. and De Sarro, G. (2005). Antiabsence effects of carbenoxolone in two genetic animal models of absence epilepsy (WAG/Rij rats and lh/lh mice). *Neuropharmacology*, **49**, 551-563.
- Ito, M., Shii, D., Segami, T., Kojima, R. and Suzuki, Y. (1992). Preventive actions of Z-103 through increase in the activities of oxygen-derived free radical scavenging enzymes in the gastric mucosa on ethanol-induced gastric mucosal damage in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **59**, 267-274.
- Jung, H.J., Kang, S.S., Woo, J.J. and Choi, J.S. (2005). A new lavandulylated flavonoid with free radical and ONOO-scavenging activities from *Glycyrrhiza glabra*. *Arch. Pharm. Res.*, **28**, 1333-1336.
- Kenji, N., Midori, H., Shigeo, M., Yasuhiro, Y., Hideki, M. and Teruhiko, T. (1999). Preventive effects of glycyrrhizae radix extract on Estrogen-related endometrial carcinogenesis in mice. *Jpn. J. Cancer Res.*, **90**, 726-732.
- Kim, H.A., You, H.K., Shin, H.S., Kim, Y.C., Kang, T.H., Yu, H.H. and You, Y.O. (2003). Effects of aqueous extract of *Glycyrrhiza glabra* on the expression of cell cycle regulatory proteins in human oral mucosal fibroblasts. *Am. J. Chin. Med.*, **31**, 563-572.
- Kim, J.M., Shin, J.E., Han, M.J., Baek, N.I. and Kim, D.H. (2003). Inhibitory Effect of Ginseng Polyacetylenes or

- Infection and Vacuolation of *Helicobacter pylori*. *Nat. Prod. Sci.*, **9**, 158-160.
- Kim, Y.C., Kim, H.S., Wataya, Y., Sohn, D.H., Kang, T.H., Kim, M.S., Kim, Y.M., Lee, G.M., Chang, J.D. and Park, H. (2004). Antimalarial activity of lavandulyl flavanones isolated from the roots of *Glycyrrhiza glabra*. *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 748-750.
- Mizui, T. and Dodeuchi, M. (1983). Effect of polyamines on acidified ethanol induced gastric lesion in rats. *Jpn. J. Pharmacol.*, **33**, 939-945.
- Shay, H., Komarov, S.A., Fels, S.S., Meranze, D., Gruenstein, M. and Siple, H. (1945). A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rat. *Gastroenterology*, **4**, 43-61.
- Son, J.K., Park, J.S., Kim, J.A., Kim, Y., Chung, S.R. and Lee, S.H. (2003). Prenylated flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza glabra* with tyrosinase inhibitory activity. *Planta Med.*, **69**, 559-561.
- Tanaka, Y., Kikuzaki, H., Fukuda, S. and Nakatani, N. (2001). Antibacterial compounds of licorice against upper airway respiratory tract pathogens. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **47**, 270-273.
- Uchiyama, M., Suzuki, Y. and Fukuzawa, K. (1968). : Biochemical studies of physiological function of tocopherolacetone. *Yakugaku Zasshi*, **88**, 678-683.
- Zakirov, U.B. and Abdullaev, A. (1996). The hypolipidemic and antiatherosclerotic properties of the ammonium salt of glycyrrhetic acid and of 18-dehydroglycyrrhetic acid. *Eksp. Klin. Farmakol.*, **59**, 53-55.