

# 실험적 위궤양 모델에 대한 천연물질의 항궤양 효과에 관한 연구

강민희\*, 태인환\*, 조성완\*  
\*건양대학교 제약공학과  
e-mail:swcho@konyang.ac.kr

## The Studies on Antiulcer effect of Herbal medicines against experimental gastric ulcer

Min-Hee Kang\*, In-Whan Tae\*, Seong-Wan Cho\*  
\*Dept of Pharmaceutical Engineering, Konyang University

### Abstract

Stomach ulcer is the sickness with high frequency of occurrence at the digestive organs and is usually induced by a disproportion of an aggressive factor and a defense factor. To find the medicines having comparative effect to Stillen<sup>®</sup> currently on sale, we screened SHI-7004 and carried out following experiments; Effects of HCl-EtOH induced gastric lesions measuring test, Acid-Neutralizing Capacity, DPPH antioxidation activity, effect of stomach glands secretion. We can suggest that this herbal medicines could be a promising drug for the treatment of gastric ulcers.

### 1. 서론

위염(gastritis) 및 위궤양(gastric ulcer)은 위산과 펩신의 작용으로 상부 소화관이 손상을 받아 발생한 결손이 위점막근층 이하까지 침범한 상태를 말하는 것으로서 이러한 위염 및 위궤양은 세계적으로 발생 빈도가 높은 질환 중의 하나로 미국 성인 인구의 반 이상과 우리나라를 비롯한 많은 개발 도상 국가 성인의 90% 이상이 *H.pylori* 균에 감염되어 있다고 알려져 있다. 위점막은 내외부의 공격인자에 항상 노출되어 있는데 정상적인 상태에서는 고유의 방어기전에 의해 염산, 펩신 및 담즙산 등 내인성 공격인자들로부터 보호되고 있고, 이러한 내부의 공격인자 외에도 위점막은 많은 외부의 인자에 의한 공격을 받게 된다. 위염은 공격인자가 강해지거나 방어인자가 약해지면 생기게 되는데 [1] 위염 및 위궤양은 한 가지 원인에 의해 발생하는 것이 아니고 여러 가지 인자들이 복합적으로 작용한다.

급성 위염은 술이나 약에 의해 발생하여 심한 Hemorrhage를 일으키며 생명을 위협하기도 하고 만성 위염은 *H.pylori* 균이 주된 발생 원인으로 위염이나 위궤양뿐만 아니라 cancer를 일으키기도 한다. 이 질환의 특징은 급성인 경우 궤양 발생 후 정신적, 육체적 안정, 식이요법, 약물요법 등으로 치료 될 수 있으나 일정기간 내에 재발될 확률이 높으므로 완치된다고 할 수 없으며 만성궤양으로 진행되어 위장관의 출혈, 유문부 협착, 천공등의 합병증을 나타내기도 하며 [2] 또한 Aspirin이나 indomethacin 같은 비스테로이드성 소염진통제(NSAIDs) 또는 화학요법제들이 위점막에 대한 직접적인 자극을 통해 미란, 출혈 및 궤양 등의 위손상을 일으킨다고 알려져 있다 [3].

위염 및 위궤양의 치료를 위해서는 현재 제산제 및 위산 분비 억제제가 주 치료 약물로서 사용되고 있으나 이런 약물들은 장기적으로 복용할 때 약물의 용량과 관련하여 부작용과 독성 그리고 내성이 생기

게 된다. 따라서 천연자원에서부터 새로운 고 부가 가치의 식품 소재 및 위장 관련 질환을 목표로 하는 신 개념의 항염증 기능성 소재를 발굴하는 것은 매우 중요한 의미를 갖는다 할 수 있다.

산형과에 속한 다년생초본인 *Bupleurum falcaifum* Linne의 뿌리를 건조한 것으로 현재 궤양성 위장염의 치료제로 개발 중인 후보물질인 SHI-7004는 해열, 진통, 강장제, 호흡기질환, 순환기질환, 소화기질환에 효과가 있는 약재로서 주요 성분으로는 olean과 triterpenoids, stigmasterol 등이 함유되어 있고 천연에 많이 존재하는 물질로서 독성이 적은 매우 안전한 화합물로 예상되고 있다.

본 연구에서는 SHI-7004의 위장 관련 질환 치료제의 가능성을 검토하고 효과 및 기전을 연구하기 위해 현재 시판중인 항궤양제인 스틸렌(Stilten®)을 대조약으로 하여 제산력 시험, 위궤양에 미치는 영향을 실험하고 조직에 대한 영향을 살펴보기 위해 DPPH를 이용한 항산화 작용을 확인하여 유의한 치료효과를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

## 2. 기기 및 시약

### 2.1 시약

Ethanol(Duksan Chemical Co.), Hydrochloric acid(Duksan Chemical Co.), Formalin (Duksan Chemical Co.), Methanol(Duksan Chemical Co.), L-ascorbic acid(Junsei Chemical), CHJ-7876, SHI-5648, SHI-7004, HWG-1018, Stillen (Dong-A Pharm, Kor.), DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, SIGMA Co.)

### 2.2 실험기기

UV/visible spectrophotometer (Sunil instrument Co. Korea), Stereoscopic Microscope (OLYMPUS KOREA), Shaking incubator (HB-201SL, HanBaek Scientific Co. Korea), PH meter(Schott, U.S.A)

### 2.3 실험동물

실험동물은 오리엔트(주)에서 분양받은 체중 150-250g의 Sprague-Dawley계 웅성 Rats을 22±2°C에서 1주간 검역 및 순화사육을 거쳐 적응시킨 뒤 실험에 사용 하였으며, 동물내의 명암은 12시간씩으로 자동조절 시켰고, 실험 24시간 전에 절식을 시켰다. 고형사료(다물사이언스 Co. Korea) 및 물은 충분

히 공급하였으며, 실험 1시간 전에 절수시켜 사용하였다 [4-6].

## 3. 실험 방법

### 3.1 생약 추출방법

SHI-7004에 물 800ml를 넣고 냉각기를 단 추출기를 Water bath에 넣고 80°C에서 3시간 추출하고 추출한 액을 여지를 이용해서 여과한 다음 그 액을 약 70°C 이하에서 감압 농축하였다. 농축한 액의 수분을 측정하고 그 수율을 계산 하였다.

### 3.2 위궤양 유발모델

랫드를 24시간 절식시킨 후 약물을 경구투여하고 1시간 후에 150mM HCl 액으로 만든 60% EtOH 액을 랫드에 경구투여 한 다음 다시 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13ml을 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, X10)하에서 위병변 면적(gastric lesion, mm<sup>2</sup>)을 측정 한 후 위병변 억제율을 계산하였으며 그 식은 다음과 같다 [7-9].

치료율(%) =

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

### 3.3 위궤양 유발 치료모델

랫드를 24시간 절식시킨 후 시험약(SHI-7004)과 대조약을 경구투여하고 1시간 후에 150mM HCl 액으로 만든 60% EtOH 액을 랫드에 경구투여 한 다음 다시 1시간 후에 ether 마취하에 치사시킨 후 위를 적출하여 1% formalin 13ml을 위내로 주입하고 1% formalin액에 넣어 1시간 동안 고정하였다. 위의 대만부를 따라 절개하여 펼친 후에 실체현미경(Olympus, X10)하에서 위병변 면적(gastric lesion, mm<sup>2</sup>)을 측정 한 후 위의 식과 같은 방법으로 위 병변 억제율을 계산하였다 [10].

### 3.4 제산력 시험

대한약전에 명시된 제산력 시험법을 변경하여 0.1N HCl 50mL에 H<sub>2</sub>O 50mL를 첨가하여 위염과 같은 상태인 위액을 제조하였다 [11]. 여기에 시료 1g을

취하여 혼합 후 37°C의 Shaking incubator에서 1시간 동안 반응 시킨 후 pH meter로 pH를 측정하였으며 양성 대조약물로는 스틸렌(Stilten<sup>®</sup>)을 사용하였다.

**3.5 DPPH 항산화 활성**

검체를 120, 80, 40, 20, 10, 5 및 2.5 µl/ml의 농도가 되도록 조제하고 4mL씩 시험관에 취한 후 여기에 1.5 X 10<sup>-4</sup> M의 1,1- diphenyl- 2-picryl-hydrazyl/ Methanol 용액 1mL를 가한 다음 잘 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 후 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 항산화 효과는 1,1- diphenyl- 2-picryl- hydrazyl radical을 50% 제거하는 농도 EC<sub>50</sub>로 표시하고, 양성대조약물로 L-ascorbic acid를 사용하였다 [12-16]

**3.6 기초위액 분비에 대한 실험**

체중 약 200g 전후의 웅성 rats을 24시간 절식시킨 뒤 ether 마취하에 유문결찰하고 위액분비량을 Shay 등의 방법으로 측정하였다 [13]. 즉 rats를 ether 마취하에 개복하고 유문부를 결찰한 즉시 검체를 십이지장내로 주입하고 봉합한 후 4시간 후에 ether로 치사시켜 위를 적출하고 저류된 위액을 채취하였다. 채취한 위액은 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리한 다음 상정액을 취하여 위액량 및 pH를 측정하였다.

**4. 결 과**

**4.1 생약의 추출방법에 따른 수율**

생약원말을 가압추출기에 넣고 추출하여 유효 성분이 충분히 추출되도록 조작한 후 그 유효성분들을 감압농축기에 옮겨 농축하고 생성된 연조 추출물을 다시 감압 건조하여 건조 추출물로 만든 후 그 수율을 조사하였다. SHI-7004의 수율은 11%임을 알 수 있었으며 수율에 맞추어 투약량을 산출하여 경구투여량을 정하였다 (Table I).

**Table I.** Yield of SHI-7004 extract

Treatment	Yield (%)
SHI-7004	11

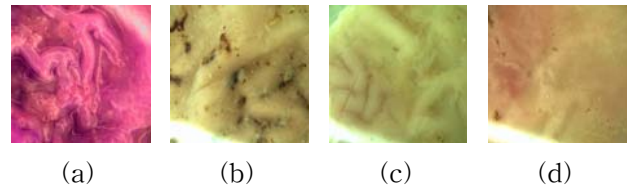
**4.2 HCl-EtOH 위궤양에 대한 영향**

60% EtOH (150mM HCl) 투여에 의해 띠모양으로

선상의 출혈에 의한 위점막 손상이 관찰되었다. 대조약물인 스틸렌 (Stilten<sup>®</sup>)은 예상된 바와 같이 위점막 손상을 억제하였으며 시험 약물 SHI-7004에서도 유의성 있는 위병변 억제효과를 나타냄을 알 수 있었으며 (Table II) 특히 위 현미경 사진에서도 우수한 치료 효과를 보여 위궤양 치료제로서의 가능성을 보여주었다 (Figure I).

**Table II.** Effects of SHI-7004, Stilten on 60% EtOH (150mM HCl) induced gastric lesions in rats

Drug	Dose (mg/kg, p.o)	Gastric Lesion	Inhibition(%)
HCl-EtOH	400	133.8	-
SHI-7004	400	69.72	47.89
Stilten <sup>®</sup>	400	95.82	28.38



**Figure I.** The effects of SHI-7004 and Stilten on 60% EtOH(150mM HCl) induced in rats(macrography)

- (a) Negative Control
- (b) HCl-EtOH
- (c) SHI-7004
- (d) Postive control (Stilten)

**4.3 제산력 시험**

생약 추출물 1g이 위산과 반응하여 어느 정도의 제산작용을 나타내는지 확인하기 위해 제산력을 측정하여 그 결과를 나타내었다 (Table III). 대조군의 pH는 1.25이었으며 SHI-7004를 첨가 후 pH는 1.76으로 위 내 pH가 향상되는 것을 확인 하였으며 이러한 결과는 SHI-7004가 대조약인 스틸렌 (Stilten<sup>®</sup>)의 제산 효과 (pH 2.0)에 상응하는 제산력을 가지는 것으로 사료된다.

**Table III.** Acid neutralizing capacity on SHI-7004 extract and Stilten<sup>®</sup>

Treatment	pH
Control	1.25
SHI-7004	1.76
Stilten <sup>®</sup>	2.0

**4.4 DPPH 항산화 활성**

*In vitro*에서의 직접적인 Free radical scaenging 효과

를 측정하고자 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 제거 활성을 측정하였다 (Table IV).

SHI-7004, Stillen이 각각 111, 101.3으로 거의 비슷한 항산화 활성을 가지는 것으로 보아 항산화능도 거의 유사한 것을 알 수 있었다.

**Table IV.** Radical scavenging effects on SHI-7004 extract, Stillen and Ascorbic acid

Treatment	EC <sub>50</sub>
SHI-7004	111
Stillen <sup>®</sup>	101.3

**4.5 기초위액 분비에 대한 실험**

SHI-7004, Stillen<sup>®</sup>의 추출물이 위액분비량, pH에 미치는 영향을 살펴보았다(TableV). 위액량은 SHI-7004가 6 ml로서 5.8 ml인 스티렌(Stillen<sup>®</sup>)과 거의 비슷하게 채취되었고 위액의 pH는 대조군이 1.18일때 시험약물인 스티렌 (Stillen<sup>®</sup>)은 1.21, SHI-7004가 1.25로 Stillen보다 pH가 더 높아진 것을 확인 할 수 있었다. 이러한 결과는 SHI-7004가 위액의 분비 및 pH 증가 측면에서 스티렌에 버금가는 효과를 가지고 있다는 것을 의미한다고 할 수 있다.

**Table V.** The effect of the SHI-7004 extract and Stillen on gastric secretion in pylorus-ligated rats

Treatment	Dose(mg/Kg)	Volume(mL)	pH
Control	-	2.6	1.18
SHI-7004	400	6	1.25
Stillen <sup>®</sup>	400	5.8	1.21

**5. 고찰**

본 연구에서는 가장 일반적으로 사용되고 있는 위궤양 유발 동물 모델을 이용하여 위궤양을 실험적으로 유발하고 SHI-7004를 투여하여 그 치료제로서의 가능성을 평가해 보고자 하였다. 생약 원말을 추출하여 얻은 SHI-7004의 수율은 11%이었으며 최초의 생약 의약품인 스티렌 (Stillen<sup>®</sup>)의 효과에 필적할 수 있는 우수한 효과를 얻었다. 특히, 위병변 면적이 대조약물인 스티렌 보다 약 20%의 치료율이 높게 나타났고, 기초위액 분비에 대한 시험에서도 대조약물보다 pH가 약 0.4정도 높게 나타나 위궤양 치료제로서의

개발 가능성을 보였으며 이러한 결과를 바탕으로 SHI-7004에 대해 생약물질의 각 성분에 대한 약리작용을 규명하는 방향으로 진행되어 지속적인 연구가 진행된다면 향후 스티렌 (Stillen<sup>®</sup>)에 버금가는 위궤양 치료 의약품으로 개발 될 수 있을 것으로 사료된다.

**감사의 글**

본 연구는 (유) 한풍제약의 지원에 의해 연구되었으며 이에 감사드립니다.

**참고문헌**

- [1] D. R. Lim, "The effect of Scutellaria Radix on gastritis and gastric ulcer", J. Applied Pharmacology. 1:4-38, 2006.
- [2] O. J. Kim et al., "Four-week Oral Toxicity Study of DA-9601, an Antiulcer Agent of Artemisia spp. Extract, in Rats", J. Applied Pharmacology. 4:354-363, 1996.
- [3] T. Y. Oh et al., "Studies on Antiulcer Effects of DA-9601, an Artemisia herba Extract against Experimental Gastric Ulcers and Its Mechanism", J. Applied Pharmacology. 4:111-121, 1996.
- [4] K. H. Seo, "The Effects of Taheebo Extracts on Gastric Secretion and Gastic Injury in Rats", J. or. FOOD & NUTR. 3:394-400, 1997.
- [5] D. H. Kim et al., "Eupatilin, a pharmacologically active flavone derived from Artemisia plants, induces cell cycle arrest in ras-transformed human mammary epithelial cells", J. Applied Pharmacology. 4:125-140, 2004.
- [6] T. Y. Oh et al., "Studies on Protective Effect of DA-9601, an Artemisiae Herba Extract, against Ethanol-induced Gastric Mucosal Damage and its Mechanism", J. Applied Pharmacology. 4:256-280, 1997
- [7] V. Heerden et al., "Post operative reflux gastritis". Am J Surg. 129:82-88, 1975
- [8] S. Mackman et al., "Postoperative reflux alkali gastritis and esophagitis". Am J Surg. 121:694-697, 1971.
- [9] J. A. Madura, "Primary bile reflux gastritis: diagnosis and surgical treatment". Am J Surg,

186:269-273. 2003.

- [10] W. P. Ritchie, "Alkaline reflux gastritis: a critical reappraisal". *Gut*. 25:975-987, 1984.
- [11] S. Kishimoto et al., "Experimental model of gastritis induced by sodium taurocholate in rats". *Hiroshima J Med Sci*. 35:143-147, 1986.
- [12] S. Kishimoto et al., "Treatment of established taurocholate-induced chronic erosive gastritis in rats with cimetidine". *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*. 71:73-292, 1991.
- [13] B. O Ahn et al., "Beneficial effect of DA-9601, an extract of *Artemisiae Herba*, on animal models of inflammatory bowel disease". *Korean J Appl Pharmacol*. 5:65-173, 1997.
- [14] B. O Ahn et al., "Protective effect of DA-9601, an *Artemisia Herba* extract, on radiation-induced colitis in wistar rats". *Korean J Appl Pharmacol*. 6:37-44, 1998.
- [15] T. Y Oh et al., "Protective effect of DA-9601, against naproxen induced gastric damage in arthritic rats". *Arch Pham Res*. 20:414-419, 1997.
- [16] T. Y. Oh et al., "Oxidative stress is more important than acid in the pathogenesis of reflux oesophagitis in rats". *Gut*. 49:364-371, 2001.