

## 몰핀의 신체적 의존성에 미치는 인삼 Saponin의 효과

김학성 · 오기완 · 박우규 · I.K. Ho\*

충북대학교 약학대학 약학과, \*미시시피 의대 약리 독성학과 객수, 미국.  
(1992년 4월 8일 접수)

## Effects of Ginseng Saponin on Morphine Physical Dependence

Hack Seang Kim, Ki Wan Oh, Woo Kyu Park and Ing Kang Ho\*

Department of Pharmacology College of Pharmacy Chungbuk National University

\*Department of Pharmacology and Toxicology University of Mississippi Medical

Center Jackson, MS. 39216. U.S.A.

(Received April 8, 1992)

**Abstract**□The present experiments were performed to investigate the effects of the ginseng total saponin on the development of physical dependence on morphine via intracerebroventricular (i.c.v) route. Morphine (10  $\mu\text{g}/\mu\text{l}/\text{hr}$ ) was continuously infused via osmotic minipumps into lateral cerebral ventricle of male Sprague Dawley rats for 7 days. Concurrent ginseng total saponin (100, 200  $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}/\text{hr}$ ) was infused intraperitoneally (i.p) via osmotic pumps for 7 days. Treatment with ginseng total saponin (200  $\mu\text{g}/10 \mu\text{l}/\text{hr}$ ) significantly diminished jumping, teeth chattering, hypothermia and weight loss precipitated by naloxone, compared with those animals received only morphine infusion. These results suggest that ginseng total saponin has central effect on the inhibition of physical dependence on morphine, as systemic ginseng total saponin inhibits the development of physical dependence in rats infused with morphine intracerebroventricularly.

**Key words**□Ginseng total saponin, morphine, physical dependence

### 서 론

저자 등은 인삼이 항 마약효과가 있음을 보고하였다.<sup>1,2)</sup> 인삼 saponin은 morphine의 진통력을 길항하며,<sup>3)</sup> 또한 morphine의 내성 및 의존성 형성을 억제하는 데 이는 인삼 saponin이 간중 morphine 6-dehydrogenase를 억제하므로써 opioid 수용체와 비가역적으로 결합하여 내성 및 의존성 등 독성을 일으키는 것으로 알려져 있는 morphinone의 형성을 감소시키고, 또한 간중 glutathione 함량을 증가시킴으로 morphinone-glutathione conjugation을 증가시켜 해독작용에 관여하는 것과 연관이 있을 것으로 보고하였다. 이와같은 인삼 saponin의 2중 작용은 morphine에 의한 내성 및 의존성 형성을 억제시키는 작용기전

중의 하나로 추정하였다.<sup>4)</sup>

인삼은 자발운동의 감소작용,<sup>5)</sup> morphine에 의한 자발운동 증강작용 즉 역내성 (reverse tolerance) 형성의 억제작용,<sup>6)</sup> 체온강하 작용,<sup>7)</sup> 항 전간효과,<sup>5)</sup> psychotropic 효과,<sup>8)</sup> hexobarbital의 수면 시간 연장효과,<sup>9)</sup> 뇌중 catecholamines의 증가 작용,<sup>10)</sup> GABA 수용체 결합의 변화 등<sup>11)</sup> 중추적 작용을 통하여 효과가 나타난다는 많은 보고가 있다. 이와같은 인삼의 중추효과는 중추적으로만 유발되는 morphine의 의존성 형성에도 영향을 미칠 것으로 시사된다.

그러나 morphine을 뇌실내로 투여하고 인삼을 전신적으로 투여하였을 때 인삼의 금단현상 억제효과에 대하여는 보고된 바 없으므로, 본 실험은 인삼이 과연 뇌-혈관벽(blood-brain barrier)을 통과하여 중추적으

로만 유도된 morphine의 의존성 형성을 억제하는가를 알아보기 위하여 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

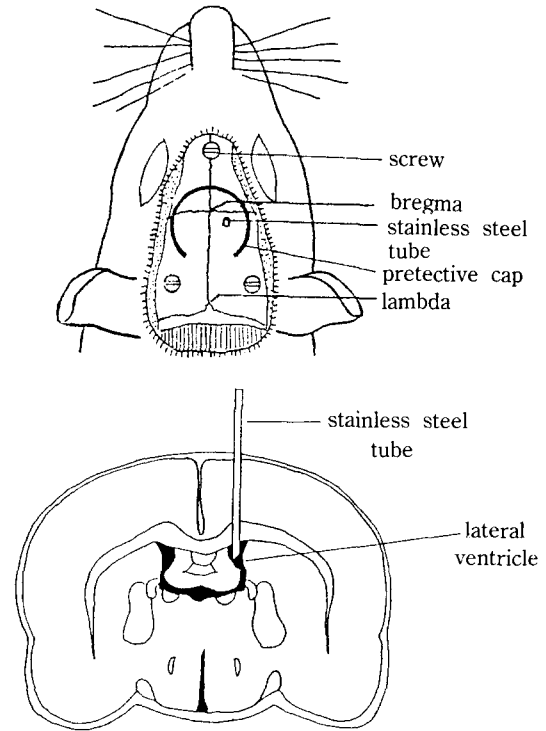
**실험동물** : 웅성 Sprague-Dawley rat(201~225g)를 구입한 다음 동물실에서 1주일 정도 적응시킨 다음(온도 20~22℃, 습도 50~60%), 체중 251~275g의 rat를 본 실험에 사용하였다. 1군에 8~11마리를 사용하였다.

**시약** : Morphine sulfate은 Sigma(U.S.A) 제품을, ginseng total saponin은 한국 인삼연초연구소에서 제공받아 생리식염수에 녹여 사용하였다. 본 실험에 사용한 마취제 Equithensin은 Sigma 등에서 구입한 시약으로 본 실험실에서 만들어 사용하였다(실험방법참고). Osmotic pumps는 Alza 회사(U.S.A)에서 구입하였다.

### 실험방법

**Guide cannulae의 i.c.v. 고정** : Rat를 Equithensin(4.25g chloral hydrate, 2.23g MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O, 0.972g pentobarbital Na, 44.4 l, propylene glycol, 10 ml 95% ethanol 그리고 적량의 증류수로 채워 100 ml로 한다)으로 체중 300g에 1ml 기준으로 복강내 주사하여 마취시킨 다음 머리부분의 털을 깎아 내고 10%의 povidone iodine으로 소독하였다. 그런 다음 laboratory standard stereotaxic apparatus로 옮겨 고정하였다. Lidocaine 0.5 ml(1 : 100,000 비율의 epinephrine이 함유된)을 두부에 피하 주사하였다. 두피의 중앙을 절개한 다음 두피하의 섬유막을 제거한 후, 두골의 세 군데의 적당한 위치에 screw(1/8")를 고정하였다(Fig. 3). Bregma에서 우측으로 1.3 mm, 안쪽으로 0.5 mm, 깊이 4.5 mm로 하여 guide cannulae(26 gauze, 10 mm)를 설치하였다. Rang's jet acrylic을 두부 표면에 바르고 보호 cap을 씌워 단단히 고정된 다음 stereotaxic apparatus에서 cage로 옮겼다(Fig. 1). 수술 후 감염을 방지하기 위하여 300,000 unit의 penicillin G procaine을 근육 주사하였다.<sup>12)</sup>

**I.c.v. 주입용 minipump 준비와 피하 이식** : 무균 시설하에서 osmotic minipump(Alzet 2001)에 saline 또는 morphine sulfate(200 µl, 10 µg/µl) 용액을 조심하여 채웠다. 이 때 morphine 용액은 세균 및 고형

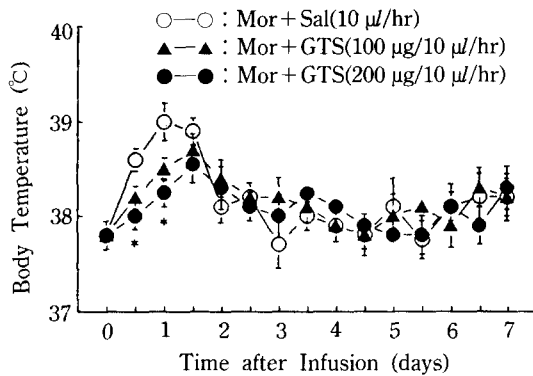


**Fig. 1.** Scheme of implantation of guide cannulae for i.c.v. infusion.

성분을 제거하기 위하여 0.2 µm millipore filter를 통과시켰다. Osmotic minipump의 정상적 유출속도(1 µl/hr)가 되도록 38℃의 소독된 saline 용액속에서 1시간 방치하였다. 32 gauze stainless steel injector(10.5 mm)를 부착한 4 cm 정도의 Tygon tube(내경 0.38 mm)를 minipump에 부착하였다. 수술 1주일 후 rat가 정상적으로 회복된 후 마취하에서 minipump를 rat 등 뒤 견갑골 사이의 피하에 이식시킨 다음 stainless steel injector를 guide cannulae에 연결하여 약물을 좌측뇌실에 7일 동안 주입하였다.

**복강내 주입용 osmotic pump 준비와 이식** : 무균 시설 하에서 osmotic pump (Alzet 2ML1)에 인삼 saponin(100, 200 µg, 10 µl/hr)용액을 조심하여 채웠다. 이 때 인삼 saponin 용액은 세균 및 고형성분을 제거하기 위하여 0.2 µm millipore filter를 통과시켰다. Osmotic pump의 정상적 유출속도(10 µl/hr)가 되도록 38℃의 소독된 saline 용액 속에서 1시간 방치하였다.

수술 1주일 후 rat가 정상적으로 회복된 후 마취



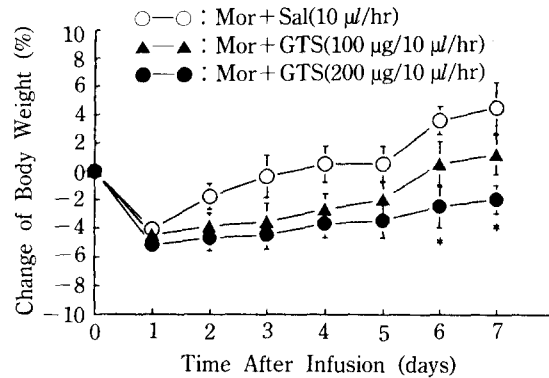
**Fig. 2.** Effects of ginseng total saponin on the morphine-induced hyperthermia. Morphine (Mor., 10 µg/µl/hr) was continuously infused via osmotic minipumps into lateral cerebral ventricle of male Sprague Dawley rats for 7 days. Ginseng total saponin (GTS, 100 or 200 µg/10 µl/hr) was infused concomitantly via intraperitoneal route. \* p<0.01 (Values are significantly lower than after 3 hours of morphine infusions.).

하에서 rat의 하복부를 절개하였다. 조심하여 복강내로 osmotic pump를 삽입하였다. 봉합한 다음 cage당 rat 2마리씩 보관하였다. Morphine의 뇌실내 주입과 동시에 인삼 saponin을 7일 동안 주입하였다.

**신체적 의존성의 측정:** 체중과 체온을 먼저 측정한다. 다음, 1 gallon 부피의 mayonnaise jar안에 rat를 놓는다. 10분 정도 순응시킨 후 naloxone 1 mg/kg을 주사한 다음 즉시 30분 동안 금단증상(jumping, teeth chattering, wet shakes, ptosis, yawning, penis licking, forepaw tremors, urination, diarrhea) 등을 quantal basis(all or none) 및 각각의 총 횟수를 측정하였다. 체중감소 및 체온감소는 naloxone 투여 1시간 후에 측정하였다. 실험이 끝난 후 morphine의 주입이 좌측 뇌실에 정확하게 투여되는지를 확인하였다.

### 결과 및 고찰

Morphine은 뇌실내로, 인삼 saponin(200 µg, 10 µl/hr)은 복강내로 동시 주입한 동물에서 3시간과 1일에 인삼 saponin은 morphine 투여군에서의 체온상승을 억제하였다(Fig. 2). 인삼은 morphine에 의한 체온상승을 억제한다는 Bhargava의 결과와 일치하였다.<sup>13)</sup> Morphine 단독 투여 2일 후에는 체온이 정상적으로



**Fig. 3.** Effect of ginseng total saponin on the morphine-induced body weight changes. Animals were administered with continuous i.c.v. infusions of morphine (10 µg/µl/hr) for 7 days. GTS (100 or 200 µg/10 µl/hr) was infused concomitantly via intraperitoneal route. \* p<0.01 (Values are significantly lower than morphine control.).

되돌아 왔다. 인삼 saponin(200 µg/10 µl/hr)은 morphine과 동시 투여 후 6일 및 7일에 morphine 단독 투여에 의한 체중감소를 증가 시켰다(Fig. 3). 인삼이 체중을 감소시킨다는 연구에 관하여는 잘 알려지지 않았으나 고용량의 인삼을 연속 주입하면 morphine에 의한 체중 감소보다도 더 체중이 감소하는 결과를 얻었다. 이와같은 체중감소 효과는 어떤 기전에 의한 것인지 앞으로 더 연구되어야 할 것이다. Morphine을 10 µg/hr로 뇌실내로 7일간 주입한 다음 naloxone으로 유도하면 100%의 jumping 반응을 보였고 그외의 금단증상 등이 심하게 나타났으며, 이 투여경로로 내성 및 의존성이 쉽게 형성한다는 사실을 입증하였다(Table 1). 인삼 saponin(200 µg/10 µl/hr)은 naloxone으로 유도된 morphine의 금단증상 중 jumping (p<0.1), teeth chattering(p<0.1), 체온감소 (p<0.05) 및 체중감소(p<0.005)를 억제 하였다(Table 1). 그러나 본 실험에서 인삼은 저 용량에서는 효과가 없었다.

인삼의 morphine 내성 및 의존성 형성 억제효과에 대하여 본 저자들은 대사와 관련하여 설명한 바 있다.<sup>4)</sup> Morphine은 morphine 6-dehydrogenase에 의해 morphinone으로 대사되며, morphinone은 morphine과 비교하여 진통력은 1/2 정도이고 독성은 10배 강하며 특히 opioid 수용체의 SH기와 비가역적으로 결합하여 독성을 나타내는 것으로 Toki 등은 보고하였다.<sup>14)</sup> 인삼은 morphine 6-dehydrogenase의 활성을

**Table 1.** Effects of ginseng total saponin on naloxone-precipitated signs in morphine-dependent rats

Signs	Treatment with GTS ( $\mu\text{g}/10 \mu\text{l/hr}$ )		
	0	100	200
Jumping	8/8 <sup>a)</sup> (18.4 ± 2.7) <sup>b)</sup>	8/10 (12.4 ± 2.7)	8/10 (10.4 ± 2.0) <sup>c)</sup>
Teeth chattering	8/8 (5.9 ± 1.1)	9/10 (4.2 ± 1.0)	8/11 (3.5 ± 0.9) <sup>c)</sup>
Wet shakes	8/8 (11.0 ± 2.1)	9/10 (7.4 ± 3.0)	8/11 (6.5 ± 2.0)
Ptosis	7/8	7/10	7/11
Penis licking	5/8	8/10	7/11
Diarrhea	3/8	0/10	0/11
Forepaw tremor	7/8 (5.1 ± 1.6)	7/10 (3.1 ± 1.0)	6/11 (2.3 ± 1.0)
Hypothermia(°C)	1.2 ± 0.1 <sup>d)</sup>	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.2 <sup>c)</sup>
Weight loss (%)	2.7 ± 0.1 <sup>e)</sup>	2.0 ± 0.1	0.7 ± 0.2 <sup>c)</sup>

<sup>a)</sup> Numerator values indicate number of animals displaying abstinence behaviors and denominator values indicate the total number of animals per group.

<sup>b)</sup> Values are mean ± S.E. of the total number of occurrences.

<sup>c)</sup> \* $p < 0.1$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.005$ , (determined by the Student's t-test).

<sup>d)</sup> Values are mean ± S.E. of changes of rectal temperatures.

<sup>e)</sup> Values are mean ± S.E. of percent of changes of body weight.

억제하여 morphinone의 생성을 억제하여 대사적으로 내성 및 의존성을 억제한다고 하였다.<sup>4)</sup> Morphinone 생성 억제 작용과 morphinone 배설촉진 작용 등의 2중 작용이 상호보완적으로 작용한다고 보고하였다. 그러나 morphine은 중추적으로 작용하는 약물이며 내성 및 의존성 형성도 중추적 효과와 더 관련이 있는 것으로 보고되어 있다. Morphine을 osmotic mini-pump를 통하여 투여한 결과 적은 용량에서 단시간 내에 내성 및 의존성이 형성된다는 사실이 보고되면서 다른 투여 경로보다 중추적인 경로에 의해 내성 및 의존성이 쉽게 형성된다는 사실이 증명되었다.<sup>15)</sup>

또한 인삼 saponin의 중추적 작용에 관하여도 많은 보고가 있다. 실제로 인삼 saponin이 뇌-혈관벽을 통과한다는 보고도 있다.<sup>16)</sup> Morphine 진통력 길항 작용,<sup>1,2)</sup> morphine에 의한 체온 상승 억제작용,<sup>1)</sup> hexobarbital의 수면시간 연장효과,<sup>9)</sup> 자발운동 억제효과<sup>5)</sup> 등의 많은 작용이 인삼 saponin의 중추적 효과로 알려져 있다. Morphine은 catecholaminergic 및 serotonergic system을 통하여 진통력이 발현되기 때문에 인삼이 뇌중 catecholamines 및 serotonin 함량을 변화시킨다는 보고는<sup>10)</sup> 인삼이 morphine의 작용에 대하여 직접 간접으로 영향을 미칠 것으로 사료된

다.

본 실험을 통하여 morphine 의존성 형성에 대한 인삼 saponin의 중추적효과는 매우 중요한 의미를 가지고 있다. Morphine에 의해 중추작용만으로 형성되는 의존성에 대한 인삼 saponin의 억제효과는 지금까지 알려져 왔던 대사에 관련한 기전들과는 또 다른 작용기전이 복합적으로 관여하는 것으로 사료되며, 인삼 saponin의 보다 구체적인 작용기전을 규명할 필요가 있다고 하겠다. 본 연구실의 *in vitro* 실험에 의하면 인삼 saponin이 opioid 수용체 결합의 결합수를 변화시키는 결과를 얻었다(미발표 논문). 따라서 인삼 saponin은 opioid 수용체에도 직접 또는 간접으로 영향을 미칠수 있을 것으로 추정된다.

#### 인용문헌

1. Kim, H.S., Oh, K.W., Lee, M.K., Back, D.Y., Rheu, H.M. and Seong, Y.H.: *Kor. J. Ginseng Sci.*, **14**(2), 178 (1990).
2. Kim, H.S., Oh, K.W., Oh, S.K., Rheu, H.M. and Seong, Y.H.: *Kor. J. Ginseng Sci.*, **15**(1), 6 (1991).
3. Kim, H.S., Oh, K.W. and Oh, S.K.: *J. Kor. Pharm. Sci.*, **16**(4), 135 (1986).

4. Kim, H.S., Oh, K.W., Park, W.K., Shigeru, Y. and Satoshi, T.: *Kor. J. Ginseng Sci.*, **11**(2), 182 (1987).
5. Kim, E.C., Cho, H.Y. and Kim, J.M.: *Kor. J. Pharmacol.*, **2**, 23 (1971).
6. Kim, H.S., Jang, C.G. and Lee, M.G.: *Planta Medica*, **56**, 158 (1990).
7. Petkov, W.: *Arz. Forsch.*, **9**, 305 (1959).
8. Yoshimura, H., Watanabe, K. and Ogawa, N.: *Eur. J. Pharmacol.*, **146**, 292 (1988).
9. Kim, H.S., Hwang, S.L., Seong, Y.H., Jung, M.W. and Lee, M.G.: *Kor. J. Ginseng Sci.*, **14**(3), 399 (1990).
10. Petkov, V.: *Arz. Forsch./Drug Research*, **28**, 388 (1978).
11. Kimura, T., Saunders, P.A., Kim, H.S., Rhee, H.M., Oh, K.W. and Ho, I.K.: *Brain Res. Bulletin. Submitted*, (1991).
12. Oh, K.W., Makimura, M., Jaw, S.P., Hoskins, B. and Ho, I.K.: *Pharm. Biochem. Behav.*, **41**(4), In Press (1991).
13. Ramarao, P. and Bhargava, H.N.: *Gen. Pharmacol.*, **21**(6), 877 (1990).
14. Yamano, S., Kageyra, E., Ishida, T. and Toki, S.: *J. Biol. Chem.*, **260**, 5259 (1985).
15. Martin, W.R.: *Pharmacol. Rev.*, **35**, 283 (1984).
16. Han, B. H., Park, M.K. and Lee, E.S.: *Kor. J. Ginseng Sci.*, **15**(2), 112 (1991).